

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA**  
**E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**Marianna Pozzatti Martins de Siqueira**

**Desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação  
de metais traço em vegetais da família Solanaceae por espectrometria de absorção  
atômica de alta resolução com fonte contínua em forno de grafite  
por análise direta de sólidos**

**Orientadora: Profa. Dra. Maria Goreti R. Vale**

**Porto Alegre**

**2017**

MARIANNA POZZATTI MARTINS DE SIQUEIRA

**Desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação  
de metais traço em vegetais da família Solanaceae por espectrometria de absorção  
atômica de alta resolução com fonte contínua em forno de grafite  
por análise direta de sólidos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como um dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Goreti R. Vale

**Porto Alegre  
2017**

## CIP - Catalogação na Publicação

de Siqueira, Marianna Pozzatti Martins

Desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação de metais traço em vegetais da família Solanaceae por espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua em forno de grafite por análise direta de sólidos / Marianna Pozzatti Martins de Siqueira. -- 2017.  
64 f.

Orientadora: Maria Goreti R. Vale.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, BR-RS, 2017.

1. HR-CS GF AAS. 2. Análise direta de sólidos. 3. Determinação de metais. 4. Família Solanaceae. 5. Vegetais convencionais e orgânicos. I. Vale, Maria Goreti R., orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS

A presente dissertação foi realizada inteiramente pela autora, exceto as colaborações, as quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre março de 2015 e março de 2017, no Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob orientação da Professora Doutora Maria Goreti Rodrigues Vale. A tese foi julgada adequada para a obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela seguinte banca examinadora:

**Comissão examinadora:**

**Data da Homologação:** \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Profa. Dra. Rosane Rech  
Doutora em Biologia Celular e Molecular  
PPGCTA/UFRGS

Prof. Dr. Eliseu Rodrigues  
Doutor em Ciência dos Alimentos  
PPGCTA/UFRGS

Profa. Dra. Morgana B. Dessuy  
Doutora em Química  
IQ/UFRGS

Profa. Dra. Maria Goreti R. Vale  
Docente do Instituto de Química e  
Instituto de Ciência e Tecnologia de  
Alimentos / UFRGS  
(Orientadora)

Marianna Pozzatti Martins de Siqueira  
(Mestranda)

Porto Alegre, março de 2017

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus.

À minha mãe e minha avó, Jaqueline e Tereza, por todo apoio, exemplo e incentivo ao longo de minha vida.

Ao meu namorado, Filipe, por me alegrar, compreender, tornando meus dias muito mais alegres, além de todo carinho, parceria e ajuda a cada passo dado.

À minha orientadora, Maria Goreti, pela oportunidade concedida, orientação e por todo conhecimento transmitido. E também, a todos professores do ICTA e do Instituto de Química, que tive a oportunidade de conhecer e aprender muito durante o Mestrado.

A todos meus colegas do Grupo de Análise de Traços: Josi, Xicó, Álvaro, Alex, Wiliam, Aline, Mariana, Leandro, Susane, Raimundo, Deninha, Eliana, Charles, Caroline, Tatiane, Antônio, Gabriele, Carla, Ândria, Natália e Débora, bem como à Maria Jara, colega de apartamento e do ICTA, agradeço pela troca de conhecimentos, amizade e bom ambiente de trabalho.

Ao Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos e o Instituto de Química.

À CAPES, pelo apoio financeiro concedido.

A todos que de alguma forma contribuíram para este trabalho.

**Muito Obrigada!**

## PRODUÇÃO CIENTÍFICA GERADA POR ESTE TRABALHO

### TRABALHOS APRESENTADOS EM EVENTOS

POZZATTI, M.; de JESUS, A.; VALE, M.G.R. Determination of Cd, Cr and Cu in Vegetables of the Solanaceae Family Using High Resolution Continuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry; **European Symposium on Atomic Spectrometry**, Eger, Hungria, 2016. (Pôster)

POZZATTI, M.; BORGES, A.R.; VALE, M.G.R. Method Development for the Determination of Cd in Vegetables of Solanaceae Family Using High Resolution Continuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry and Direct Solid Sampling Analysis; **8º Congresso Argentino De Química Analítica**, La Plata, Argentina, 2015. (Pôster)

POZZATTI, M.; VALE, M.G.R. Análise do Impacto do Cultivo Orgânico e Convencional em Vegetais em Relação à Presença dos Metais Cr e Cu; **5º Fórum Internacional Ecoinovar**, Santa Maria, Brasil, 2016. (Pôster)

POZZATTI, M.; DESSUY, M.B.; VALE, M.G.R.; MONTIBELLER, M.J.; RIOS, A.; MANFROI, M. Determinação de Cádmio em Vegetais Cultivados pelos Sistema Convencional e Orgânico de Produção; **XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Gramado, Brasil, 2016. (Pôster)

### ARTIGOS COMPLETOS PUBLICADOS EM PERIÓDICOS

POZZATTI, M.; BORGES, A.R.; DESSUY, M.B.; VALE, M.G.R.; WELZ, B. Determination of Cadmium, Chromium and Copper in Vegetables of the Solanaceae Family Using High Resolution Continuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry and Direct Solid Sampling Analysis; **Analytical Methods**, v. 9, p. 329 – 337, 2016.

POZZATTI, M.; NAKADI, F.V.; VALE, M.G.R.; WELZ, B. Simultaneous Determination of Nickel and Iron in Vegetables of Solanaceae Family Using High-Resolution Continuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry and Direct Solid Sample Analysis; **Microchemical Journal**, v. 133, p. 162-167, 2017.

## RESUMO

Neste trabalho foram desenvolvidos quatro métodos analíticos para a determinação de cádmio, cromo, cobre, níquel e ferro em vegetais da família Solanaceae, cultivados pelos métodos convencional e orgânico de produção, obtidos em feiras e mercados da cidade de Porto Alegre, Brasil. Estes vegetais são muito consumidos devido a grande quantidade de nutrientes, no entanto, podem ser contaminados por elementos potencialmente tóxicos, por meio da exposição a poluição, uso de pesticidas, fertilizantes e água contaminada. As determinações foram conduzidas pela técnica de espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua em forno de grafite por análise direta de sólidos. Para Cd, Cr e Cu foram desenvolvidos três métodos independentes. No caso da determinação de Ni e Fe foi realizada análise simultânea, empregando linhas analíticas alternativas. Temperaturas de pirólise e atomização foram otimizadas para todos os elementos analisados, visando sinais analíticos com elevada sensibilidade e livres de interferências. Os métodos otimizados foram aplicados em amostras de pimentão, batata, tomate, berinjela, pimenta e physalis. Várias amostras apresentaram concentrações superiores aos limites máximos estabelecidos por legislações específicas. Os métodos propostos envolveram mínimo preparo de amostra, reduzindo riscos de contaminação, tempo analítico e custos, além de demonstrarem-se simples, precisos, rápidos e sensíveis.

**PALAVRAS-CHAVE:** HR-CS GF AAS; Análise direta de sólidos; Determinação de metais; Família Solanaceae; Vegetais convencionais e orgânicos.

## **ABSTRACT**

In this work, four methods have been developed for the determination of cadmium, chromium, copper, nickel and iron in vegetables of the Solanaceae family, cultivated in conventional and organic farming systems, obtained from local markets and local farms, located in the city of Porto Alegre, Brazil. These vegetables are much appreciated due to the large amount of nutrients present in it. However, vegetables can be contaminated by potentially toxic elements, through the exposure to pollution, use of pesticide, fertilizers and contaminated water. The assays were carried out using a high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometer and direct solid sample analysis. Cd, Cr and Cu had their methods individually developed. In the case of the determination of Ni and Fe, it was applied simultaneous analysis, employing alternative analytical lines. Pyrolysis and atomization temperatures were optimized for all target elements, aiming for analytical signals with high sensitivity and free from interferences. The optimized methods were applied in samples of bell peppers, potato, tomato, eggplant, pepper and physalis. Several samples presented concentrations above the maximum permitted by specific legislation. The proposed methods were accurate, simple, fast and sensitive; moreover, a minimum sample preparation was necessary, reducing contamination, analytical time and costs.

**KEYWORDS:** HR-CS GF AAS; Direct solid sample analysis; Metal determination; Solanaceae family; Conventional and organic vegetables.



## LISTA DE ABREVIATURAS

AAS – Espectrometria de absorção atômica (do inglês “*Atomic Absorption Spectrometry*”)

Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CCD – Dispositivo de carga acoplada (do inglês “*Charge Coupled Device*”)

CRM – Material de referência certificado (do inglês “*Certified Reference Material*”)

CS – Fonte contínua (do inglês “*Continuum Source*”)

F AAS – Espectrometria de absorção atômica com chama (do inglês “*Flame Atomic Absorption Spectrometry*”)

GF – Forno de Grafite (do inglês “*Graphite Furnace*”)

GF AAS – Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (do inglês “*Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*”)

HCL – Lâmpada de Cátodo Oco (do inglês “*Hollow Cathode Lamp*”)

HG – AFS – Espectrometria de Fluorescência atômica com geração de hidretos (do inglês “*Hydride Generation Atomic Fluorescence Spectrometry*”)

HR-CS AAS – Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (do inglês “*High Resolution Continuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*”)

HR-CS GF AAS – Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua com forno de grafite (do inglês “*High Resolution Continuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*”)

HR-CS SS-GF AAS – Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua em forno de grafite por análise direta de sólidos (do inglês “*High Resolution Continuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry and Direct Solid Sampling Analysis*”)

ICP-MS - Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (do inglês “*Inductively Coupled Plasm Mass Spectrometry*”)

ICP-OES – Espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (do inglês “*Inductively Coupled Plasm Optical Emission Spectrometry*”)

LMR – Limite máximo de resíduos

LOD – Limite de detecção (do inglês “*Limit of Detection*”)

LOQ – Limite de quantificação (do inglês “*Limit of Quantification*”)

LS – Fonte de linha (do inglês “*Line Source*”)

LS AAS – Espectrometria de absorção atômica com fonte de linha (do inglês “*Line Source Atomic Absorption Spectrometry*”)

LSBC – Algoritmo de mínimos quadrados (do inglês “*Last Square Background Correction*”)

$m_0$  – Massa característica (do inglês “*Characteristic Mass*”)

SS – Amostragem sólida (do inglês “*Solid sampling*”)

$T_{\text{atm}}$  – Temperatura de atomização

$T_{\text{pir}}$  – Temperatura de pirólise

USDA – *United States Department of Agriculture*

WHO – Organização Mundial da Saúde (do inglês “*World Health Organization*”)

## SUMÁRIO

RESUMO .....	V
ABSTRACT .....	VI
LISTA DE ABREVIATURAS .....	VII
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Contaminações em vegetais da família Solanaceae .....	3
2.2 Cultivo pelo método convencional e orgânico .....	4
2.3 Metais .....	7
2.3.1 Cádmio .....	8
2.3.2 Cromo.....	9
2.3.3 Cobre .....	9
2.3.4 Níquel.....	10
2.3.5 Ferro .....	10
2.4 Técnicas para determinação de metais em vegetais da família Solanaceae .....	11
2.5 A espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e análise direta de sólidos.....	14
2.6 A Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS).....	16
3 OBJETIVOS.....	19
4 METODOLOGIA.....	20
5. ARTIGOS CIENTÍFICOS .....	23
5.1 Artigo 1.....	23
5.2 Artigo 2.....	36
6. DISCUSSÃO GERAL E CONCLUSÕES .....	45
6.1 Discussão geral.....	45
6.2 Conclusões.....	47
REFERÊNCIAS .....	48

## 1 INTRODUÇÃO

Os vegetais costumam apresentar um elevado consumo, por contribuírem com grande quantidade de vitaminas e minerais, essenciais para a manutenção da saúde. Com essa crescente procura por alimentos mais saudáveis, o consumo de vegetais se torna cada vez maior, e conseqüentemente, é necessária uma elevada produção agrícola. Para obter grandes produções, normalmente, recorre-se ao uso de fertilizantes, os quais contêm nutrientes essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas, tais como macronutrientes: nitrogênio, fósforo, potássio, enxofre, cálcio e magnésio e micronutrientes: cobre, ferro, zinco e molibdênio. No entanto, se aplicados em demasia, podem contribuir para a contaminação dos alimentos (ISHERWOOD, 2000), além disto, também existem estudos que apontam a presença de metais potencialmente tóxicos nos fertilizantes, como cádmio, cromo, tálio e chumbo (BORGES *et al.*, 2011; BORGES *et al.*, 2014; BORGES *et al.*, 2015).

Os pesticidas, devido à grande ameaça do ataque de pragas, também são amplamente utilizados para assegurar uma boa produção, principalmente, para as culturas do pimentão (PEREIRA, PINHEIRO, CARVALHO, 2013), pimenta (EMBRAPA, 2007) e tomate (EMBRAPA, 2006). No entanto, quando aplicados de forma indiscriminada, podem ocasionar a contaminação da produção, causando malefícios aos que os ingerirem e para o ambiente (PEREIRA, PINHEIRO, CARVALHO, 2013).

Como alternativa referente a aplicação de produtos sintéticos durante a produção de alimentos, aparece como opção de consumo, os produtos orgânicos. No caso dos alimentos orgânicos, devido a não utilização de agrotóxicos e fertilizantes sintéticos, a premissa principal consiste na possibilidade de consumir alimentos isentos de substâncias possivelmente prejudiciais à saúde. Contudo, deve-se levar em conta que mesmo existindo uma série de regras para a produção, ainda assim, os alimentos podem vir a ser contaminados por elementos potencialmente tóxicos. Esta contaminação pode advir da deposição pelo ar, presença no solo, pela emissão pelas fábricas localizadas próximas à produção, água contaminada ou escapamento de veículos (TOXICOLOGICAL PROFILE FOR CADMIUM, 2012).

Devido à grande diversidade de vegetais, eles foram divididos em categorias: espécie, gênero, família, ordem, classe, filo e reino (GRAÇA, 1992). Os vegetais que são agrupados em uma mesma família botânica possuem similaridades na forma de cultivo e em relação a pragas e doenças. Reconhecer as famílias botânicas é de grande importância, pois a

rotação adequada e eficaz das culturas (plantio alternado de famílias), evita que pragas atuem nos cultivos subsequentes (GARDENING HELP, 2016).

Dentro das famílias, se destaca a família Solanaceae, a qual engloba os vegetais: pimentão, pimentas, berinjela, tomate, physalis, batata, tabaco, entre outros (GARDENING HELP, 2016). Os vegetais pertencentes a esta família são de grande importância, pois eles contam com aproximadamente 90 gêneros e cerca de 3000 a 4000 espécies. Estes vegetais são largamente utilizados pelos humanos como plantas ornamentais, remédios, mas, principalmente como alimento (KNNAP, 2004). São muito apreciados, pois contribuem com grande quantidade de nutrientes. O pimentão possui grande quantidade de ácido ascórbico, vitamina A, vitaminas do complexo B, flavonoides, ácidos fenólicos, carotenoides, ferro, fósforo e cálcio (PEREIRA, PINHEIRO, CARVALHO, 2013). As pimentas possuem cálcio, fósforo e vitamina C (EMBRAPA, 2007). A berinjela possui vitaminas A, C, riboflavina, niacina e tiamina (OKMEN *et al.* 2009), já o tomate possui vitamina A, C, E e vitaminas do complexo B, bem como os minerais potássio, cálcio, magnésio e fósforo (EMBRAPA, 2006). O physalis é conhecido por ser rico em vitaminas A e C, além dos minerais ferro e fósforo (MUNIZ, MOLINA, 2015). A batata, por sua vez, é um alimento muito popular na dieta de diversas culturas, é fonte de carboidratos, proteínas, vitamina C e do mineral potássio (NAKANO, DELEO, BOTEON, 2006).

Deste modo, as culturas de pimentão, tomate, pimenta, batata, berinjela e physalis, tanto conduzidas pelo método convencional, como pelo método orgânico, podem estar expostas ao risco de contaminação por metais, advindos da aplicação de pesticidas e fertilizantes, entre outros fatores.

Tendo em vista os problemas causados pelo excesso de metais potencialmente tóxicos no meio e nos seres humanos, torna-se necessária a caracterização destes elementos, bem como um rigoroso controle, pois podem causar uma série de problemas à saúde e, dependendo da concentração, podem até mesmo levar à morte (ISHERWOOD, 2000).

Normalmente, estes elementos apresentam-se em baixas concentrações nos alimentos, assim, para determiná-los, são necessárias técnicas analíticas extremamente sensíveis, exatas, precisas e que possam ser aplicadas à rotina. Dentro deste contexto o presente trabalho apresenta o desenvolvimento de quatro métodos analíticos para determinação de cádmio, cromo, cobre, níquel e ferro em vegetais da família Solanaceae. Para isto, será utilizada a espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua em forno de grafite por análise direta de sólidos (HR-CS SS-GF AAS), uma técnica que prioriza o mínimo consumo de reagentes e o reduzido manuseio da amostra.

## **2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Nesta sessão serão discutidos os fundamentos teóricos que embasaram a pesquisa e a revisão bibliográfica referente aos estudos mais importantes relacionados ao assunto desta dissertação. Constam na revisão aspectos referentes aos motivos que levaram a escolha dos vegetais pertencentes à família Solanaceae, as diferenças entre o cultivo convencional e orgânico, características dos metais estudados, as principais técnicas utilizadas para análise de vegetais e os conceitos envolvidos na técnica de HR-CS SS-GF AAS.

### **2.1 Contaminações em vegetais da família Solanaceae**

Para controlar a qualidade e segurança dos alimentos, foi instituído pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), no ano de 2001, o PARA - Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos. O programa analisa alimentos de origem vegetal representativos da dieta da população brasileira, dentre eles, o pimentão, tomate e a batata.

O pimentão foi analisado pela primeira vez no ano de 2008 e cerca de 60% das amostras apresentaram concentrações de diversos agrotóxicos acima do estipulado pelo LMR - Limite Máximo de Resíduos, estabelecidos pela ANVISA. Em 2011, 84% das amostras de pimentão estavam contaminadas por resíduos de agrotóxicos não autorizados para a agricultura; 0,9% continham agrotóxicos acima do LMR e 4,7% continham as duas situações simultaneamente. As amostras contaminadas totalizaram 90%, sendo detectados vinte tipos diferentes de agrotóxicos, dentre eles, 17 inseticidas e 3 fungicidas (ANVISA, 2013).

Em 2012, foi realizada a análise de diversos outros alimentos, dentre eles, o tomate. Foi verificado que 11,4% das amostras apresentaram agrotóxicos não autorizados para o plantio; 2,4% possuíam agrotóxicos acima do LMR e 2% continham as duas situações simultaneamente (ANVISA, 2014).

Em 2002, 22,2% das amostras de batata apresentaram resíduos de agrotóxicos não permitidos para a agricultura (ANVISA, 2008). Já em 2009 apenas 1,2% das amostras foram insatisfatórias (ANVISA, 2010).

Para as amostras de pimentão, os relatórios que englobam os anos de 2013 a 2015, das 243 amostras analisadas, apenas 27 foram satisfatórias, destas, 5 não apresentaram nenhum resíduo de agrotóxico e 22 apresentaram quantidade de resíduos igual ou inferior ao LMR. Para o tomate, das 730 amostras investigadas, 67,9% foram satisfatórias e para a batata, das 742 amostras em estudo, apenas 4,5% apresentaram resultados insatisfatórios (ANVISA, 2016).

Agrotóxicos e fertilizantes podem conter metais em sua formulação, por este motivo, há a possibilidade de contribuírem para a contaminação da produção. No entanto, a presença de metais nos vegetais não tem como única fonte a aplicação de agrotóxicos ou fertilizantes, eles podem estar naturalmente presentes no solo, por meio da deposição pelo ar, proximidade com indústrias, estradas e uso de água contaminada. Por isso, vegetais orgânicos podem também vir a ser expostos aos metais potencialmente tóxicos (TOXICOLOGICAL PROFILE FOR CADMIUM, 2012; TOXICOLOGICAL PROFILE FOR CHROMIUM, 2012; TOXICOLOGICAL PROFILE FOR COPPER, 2004).

Justifica-se o fato da escolha dos vegetais (pimentões, batata, tomate, physalis, berinjela e pimenta), pela grande exposição a agrotóxicos e pesticidas relatado pelo PARA e pela escassez de estudos destinados ao desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação de metais traço nestes vegetais utilizando a HR-CS SS-GF AAS.

## **2.2 Cultivo pelo método convencional e orgânico**

A agricultura orgânica vem sendo praticada desde a década de 20 como resposta ao processo de industrialização da agricultura (TORJUSEN *et al.*, 2001). Hoje, observa-se uma maior procura por alimentos orgânicos, devido a crescente preocupação que relaciona o manejo convencional, no qual podem ocorrer contaminações na cadeia alimentar, devido ao uso de fertilizantes, pesticidas e demais coadjuvantes, com o manejo orgânico, que tem como engajamento o cuidado do alimento, saúde e meio ambiente (LAIRON, 2010).

Segundo a Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003, artigo 1º:

Considera-se sistema orgânico de produção agropecuária todo aquele em que se adotam técnicas específicas, mediante a otimização do uso dos recursos naturais e socioeconômicos disponíveis e o respeito à integridade cultural das comunidades rurais, tendo por objetivo a sustentabilidade econômica e ecológica, a maximização dos benefícios sociais, a minimização da dependência de energia não-renovável, empregando, sempre que possível, métodos culturais, biológicos e mecânicos, em contraposição ao uso de

materiais sintéticos, a eliminação do uso de organismos geneticamente modificados e radiações ionizantes, em qualquer fase do processo de produção, processamento, armazenamento, distribuição e comercialização, e a proteção do meio ambiente. (BRASIL, 2003).

Desta forma, a legislação orgânica brasileira, bem como da União Europeia (CCE/2092/91 e CE/1804/99) estabelecem meios para alcançar o objetivo de oferecer alimentos isentos de pesticidas e fertilizantes, de antibióticos, de organismos geneticamente modificados e com reduzido uso de aditivos em alimentos industrializados.

Para serem comercializados, os produtos orgânicos deverão obter certificação de organismo reconhecido oficialmente, ou, no caso de venda direta ao consumidor, há a possibilidade de não ser certificado, mas para isto, é necessário que o produtor esteja vinculado a uma organização com controle social cadastrada no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) ou em outro órgão fiscalizador federal, estadual ou distrital conveniado (BRASIL, 2007).

São escassos os dados que assegurem que há vantagens em consumir os alimentos orgânicos frente aos convencionais, com vistas ao teor nutricional, devido à dificuldade de dirigir um estudo que possua todas as variáveis controladas, para que os resultados obtidos tenham tão só e unicamente a forma de cultivo como diferencial. Algumas pesquisas apontam que há sim maior concentração de nutrientes em alimentos manejados pelo sistema orgânico (HALLMAN, 2012; BARAŃSKI *et al.*, 2014; PEREIRA *et al.*, 2016; KAZIMIERCZAK *et al.*, 2016), enquanto outras, dizem não haver diferenças nutricionais entre os dois cultivos (DANGOUR *et al.*, 2009; JUROSZEK *et al.*, 2009; KREJČOVÁ *et al.*, 2016).

Quanto a diferença referente ao aporte de resíduos de pesticidas e de outras substâncias sintéticas entre alimentos produzidos por meio do sistema orgânico e convencional, espera-se que o alimento orgânico contenha uma concentração bem menor ou que tal concentração seja praticamente nula. As pesquisas já realizadas apontam uma clara vantagem dos alimentos orgânicos em comparação aos alimentos produzidos pelo método convencional (PUSSEMIER *et al.*, 2006; REKHA, NAIK, 2006; LIMA, VIANELLO, 2011; SANTOS *et al.*, 2012; BARAŃSKI *et al.*, 2014).

Com relação ao aporte de metais em alimentos orgânicos e convencionais, Barański *et al.* (2014), afirmam que os protocolos envolvidos no cultivo orgânico podem afetar os padrões de captação de minerais e os processos metabólicos que ocorrem nas plantas. Vreck *et al.* (2014), analisando farinhas de trigo convencionais e orgânicas, encontraram maior concentração de potássio, zinco e molibdênio em farinhas orgânicas e maior concentração de



cálcio, manganês e ferro em farinhas convencionais. Metais potencialmente tóxicos como, alumínio, arsênio, cádmio e chumbo foram encontrados em menor concentração no sistema orgânico de produção. Já para Krejčová *et al.* (2016), os quais reportam o estudo realizado em cenouras produzidas organicamente e de modo convencional, com relação aos metais, não foi possível apontar diferenças significativas entre os dois cultivos. Kelly e Bateman (2010), encontraram maiores concentrações de cálcio, cobre e zinco e menores concentrações de manganês nas culturas de tomate orgânico, também detectaram a presença de fungos micorrízicos arbusculares que se apresentam em grande quantidade em solos manejados pelo sistema orgânico, sugerindo usar essa informação como indicador de autenticidade para alimentos orgânicos.

Segundo estudo realizado por Barański *et al.* (2014), no qual foram analisadas diversas publicações entre 1992 e 2011, em um total de 343 artigos que envolviam a influência do cultivo orgânico e convencional nas culturas, foi verificado que, com relação a atividade antioxidante, maiores concentrações estavam presentes nos vegetais orgânicos para a maioria dos compostos estudados, com exceção da vitamina E, que se mostrou maior nas culturas convencionais. Com relação a concentração de proteínas, carboidratos, aminoácidos e fibras, os vegetais orgânicos apresentaram maiores quantidades de carboidratos e menores concentrações dos outros constituintes citados. Para os metais tóxicos e pesticidas, as análises detectaram uma tendência para haver menores concentrações de cádmio nas culturas orgânicas, no entanto, quando cereais, vegetais e frutas foram analisados separadamente, foram encontradas diferenças significativas apenas para os cereais. Avaliando os diferentes estudos, para arsênio e chumbo, não foram detectadas diferenças significativas nas concentrações existentes entre os dois cultivos. Quanto a presença de resíduos de pesticidas, os vegetais convencionais apresentaram quatro vezes mais pesticidas do que os vegetais orgânicos. Frutas demonstraram ter uma maior frequência de contaminação por pesticidas do que os vegetais. Com relação a outros minerais, as culturas orgânicas apresentaram menores quantidades de manganês, cromo e estrôncio e maiores concentrações de zinco, gálio, manganês, molibdênio e rubídio. Neste estudo, os autores verificaram que houve uma considerável variação entre os resultados obtidos por diferentes tipos de culturas, espécies, clima e locais, reafirmando o fato da dificuldade de obter resultados que apontem as diferenças existentes entre os cultivos.

Como já dito anteriormente, espera-se que os vegetais cultivados pelo sistema orgânico contenham menor concentração de elementos potencialmente tóxicos, por não contarem com algumas das possíveis fontes de contaminação, como o uso de pesticidas,

fertilizantes e demais substâncias sintéticas. Porém, há outras possíveis fontes de contaminação que persistem no cultivo orgânico, como por exemplo, o uso de adubo natural que possa ter sido contaminado, uso de lamas de esgoto, deposição pelo ar, proximidade com indústrias, estradas, entre outros.

Segundo Borguine *et al.* (2006), ainda há uma grande escassez de dados referentes à presença de resíduos de pesticidas ou presença de metais em alimentos cultivados pelo sistema orgânico, tornando mais difícil apresentar fatos concretos que apontem diferenças entre os cultivos. Por isso, torna-se de grande importância a realização de investigações sobre este assunto.

### 2.3 Metais

Conforme consta no Regulamento Técnico do Mercosul (2013):

Os níveis de contaminantes inorgânicos nos alimentos deverão ser os mais baixos possíveis, devendo prevenir-se a contaminação do alimento na fonte, aplicar a tecnologia mais apropriada na produção, manipulação, armazenamento, processamento e envase, de forma a evitar que um alimento contaminado seja comercializado ou consumido. (ANVISA, 2013, p. 33)

O Regulamento Técnico do Mercosul (2013), o qual dispõe sobre os limites máximos de contaminantes em alimentos, estabelece que, para as espécies da família Solanaceae, o limite máximo para Cd é de 0,05 mg kg<sup>-1</sup>. A União Europeia (2006) estabelece que, para alimentos em geral, o limite máximo também é de 0,05 mg kg<sup>-1</sup> para Cd.

Para o Cr, foi encontrada a *National Food Safety Standard Maximum Levels of Contaminants in Food*, elaborada pelo USDA (*United States Department of Agriculture – Foreign Agricultural Service*). Esta norma estabelece os indicadores de níveis máximos de contaminantes em alimentos, sendo que para vegetais, o limite máximo de Cr é de 0,5 mg kg<sup>-1</sup> (USDA, 2010).

Não há legislação específica para os limites máximos de Cu em alimentos, por isso, foi utilizada uma legislação paralela instituída pela ANVISA - Resolução - CNNPA nº 13, de 15 de julho de 1977, a qual estipula que o limite máximo permitido em picles é de 15 mg kg<sup>-1</sup> Cu (ANVISA, 1977).

Para o elemento Ni, não foi encontrada legislação nacional ou internacional, que estipule os limites máximos permitidos em vegetais. Sendo assim, para fins de comparação,

utilizou-se dados constantes na literatura, que afirmam que as concentrações de Ni normalmente encontradas em tecidos de plantas gira em torno de 0,5 – 5  $\mu\text{g g}^{-1}$  (ALLEN, 1989).

Não há, também, uma legislação específica para o máximo ou mínimo aporte permitido de Fe, desta forma os resultados obtidos foram comparados com as concentrações destes elementos comumente descritas na literatura (BUTNARIU, BUTU, 2015; PHYSALIS & COMPANHIA, 2017; TABELA NUTRICIONAL, 2017).

### 2.3.1 Cádmiio

O Cd é um metal que pode ser encontrado em organismos aquáticos e culturas agrícolas, devido a sua deposição no solo, na água e no ar por meio da combustão de combustíveis fósseis, incineração e eliminação de resíduos e fabricação e aplicação de fertilizantes fosfatados. Sua mobilidade no solo depende de vários fatores, como o pH e quantidade de matéria orgânica. Normalmente, o Cd liga-se fortemente a matéria orgânica presente no solo e assim, acaba sendo absorvido pelas plantas, devido a isto, pode vir a entrar na cadeia alimentar (TOXICOLOGICAL PROFILE FOR CADMIUM, 2012).

Nos Estados Unidos, o tabagismo é uma das principais formas de exposição ao Cd, sendo que, para não fumantes, a principal forma se dá por meio dos alimentos, principalmente os vegetais folhosos, batata, feijão, amendoim, soja e semente de girassol (TOXICOLOGICAL PROFILE FOR CADMIUM, 2012).

Mesmo em baixas concentrações, o Cd possui efeito altamente tóxico e agudo, causando irritação na garganta, tosse, náuseas, vômito, dispneia e febre, além de efeitos cumulativos, afetando principalmente os rins, fígado e ossos, sendo que, uma característica que causa grande preocupação, é o longo tempo de meia vida no corpo do ser humano, estimado em até 30 anos (HALLENBECK, 1986). A exposição de plantas a elevados níveis de Cd pode causar clorose (folhas amareladas) e crescimento reduzido. Alimentos como raízes de milho, aveia, soja e tomate e partes aéreas da cenoura, alface, batata e tabaco acumulam as mais altas concentrações de Cd (SINGH, 2016).

A deficiência de Fe pode acarretar o aumento da absorção gastrointestinal de Cd em humanos (FLANAGAN *et al.* 1978), enquanto que, a suplementação da dieta com Zn, auxilia a diminuir sua absorção (TOXICOLOGICAL PROFILE FOR CADMIUM, 2012).

### **2.3.2 Cromo**

O Cr é um elemento encontrado em rochas, animais, plantas e no solo. Existe sob três formas principais: Cr (0), Cr (III) e Cr (VI), sendo que, pequenas quantidades do Cr (III) são necessárias para a manutenção da saúde humana, participando na captação e metabolismo de lipídeos, proteínas e da glicose (TOXICOLOGICAL PROFILE FOR CHROMIUM, 2012).

A toxicidade causada pelo Cr depende do seu estado de oxidação e da natureza do que estiver ligado a ele. Por exemplo, o Cr (VI) é altamente tóxico mesmo em pequenas quantidades. A superioridade toxicológica quando relacionada ao Cr (III) é complexa, envolve principalmente, absorção facilitada pelas células e geração de radicais livres que podem formar complexos (TOXICOLOGICAL PROFILE FOR CHROMIUM, 2012).

As principais formas de exposição ao Cr se dão por meio do ar, no ambiente de trabalho, principalmente na indústria metalúrgica, água, solo e alimentos. Normalmente, a ocorrência da presença do Cr em alimentos se dá em quantidades vestigiais, sendo mais comum no estado trivalente. No entanto, o Cr costuma ser muito utilizado como catalisador em fungicidas, que se forem aplicados de maneira inadequada nos alimentos, podem colaborar para a contaminação pelo elemento. Os principais problemas desencadeados são respiratórios, gastrointestinais, imunológicos, reprodutivos e de desenvolvimento (TOXICOLOGICAL PROFILE FOR CHROMIUM, 2012).

### **2.3.3 Cobre**

O Cu ocorre naturalmente em rochas, água, solo, sedimentos e em níveis baixos, no ar. É um elemento essencial para todos os organismos vivos, desde que em quantidades pequenas. Em quantidades maiores, pode desencadear efeitos tóxicos, como por exemplo, a longa exposição à poeira de Cu, causa irritações no nariz, boca e olhos, dores de cabeça, tonturas e náuseas. A alta ingestão do elemento pode ocasionar danos ao sistema respiratório, gastrointestinal, hematológico, hepático, endócrino e efeitos oculares. Não se sabe se o Cu pode causar efeitos carcinogênicos, devido à falta de estudos que comprovem este fato (TOXICOLOGICAL PROFILE FOR COPPER, 2004).

O Cu pode entrar no ambiente por meio de depósitos de lixo, esgotos, combustão dos combustíveis fósseis e nos alimentos, advém, principalmente do uso dos compostos de Cu que

participam na formulação de fungicidas e fertilizantes fosfatados utilizados na agricultura, sendo estes, os mais suscetíveis a ameaçar a saúde humana (TOXICOLOGICAL PROFILE FOR COPPER, 2004).

#### **2.3.4 Níquel**

O Ni é muito utilizado para a elaboração de ligas metálicas, revestimentos, na coloração de cerâmicas, para a produção de baterias e como agente catalisador.

Por meio da mineração, indústrias, usinas de queima de petróleo e incineração de lixo, o Ni pode entrar em contato com o meio ambiente. Uma vez que o Ni encontra-se disperso no ar, liga-se fortemente a partículas de poeira que se depositam na água, em produções agrícolas e no solo, onde se liga fortemente a compostos que contenham Fe ou Mn, sendo assim, pode entrar na cadeia alimentar, a qual é uma das principais fontes de exposição ao elemento (TOXICOLOGICAL PROFILE FOR NICKEL, 2005).

Os principais efeitos causados pela exposição ao Ni são reações alérgicas na pele, danos ao sistema respiratório e risco de câncer de pulmão (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000).

#### **2.3.5 Ferro**

O Fe é o quarto elemento mais abundante na crosta terrestre, considerado um nutriente essencial para quase todas as espécies vivas. Apresenta-se, geralmente, na forma de quelatos com anéis de porfirina ou proteínas e age como transportador de oxigênio (hemoglobina e mioglobina), na respiração e no metabolismo energético e na síntese de DNA. O organismo de homens e mulheres adultos contém em média cerca de 4 g e 2,5 g de Fe, respectivamente (DAMODARAN, FENNEMA, PARKIN, 2010).

No entanto, se o Fe estiver em sua forma livre, pode apresentar toxicidade, resultante da geração de espécies de oxigênio ativado, que podem promover oxidações lipídicas, ataques a proteínas ou moléculas de DNA (DAMODARAN, FENNEMA, PARKIN, 2010; PROUSEK, 2007).

A ANVISA estabeleceu que a IDR (Ingestão Diária Recomendada) de Fe para adultos, é de 14 mg ao dia, para crianças, recomenda-se 6 mg ao dia e para gestantes, 27 mg de Fe ao dia (ANVISA, 2004).

## 2.4 Técnicas para determinação de metais em vegetais da família Solanaceae

Existem diversas técnicas analíticas disponíveis para realizar determinações de elementos traço nas mais variadas matrizes, as mais conhecidas são a espectrometria de absorção atômica (AAS), que abrange a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS), espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) e espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (HG AAS); a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) e a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), cada técnica possui suas particularidades, a escolha dependerá da complexidade das amostras, o tempo e a disponibilidade do equipamento (HOLLER, SKOOG, CROUCH, 2009).

A literatura reporta o estudo de Karavoltsos *et al.* (2008), que apresentou a investigação de cádmio e chumbo em amostras consideradas como orgânicas pela legislação grega e em amostras não reconhecidas. As amostras foram digeridas em bloco aquecido, na presença de ácido nítrico e, posteriormente, analisadas por GF AAS. O método foi validado utilizando materiais de referência certificados. Os resultados encontrados para os alimentos batata, pimentão verde, berinjela e tomate, são apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1:** Concentrações de cádmio e chumbo em produtos reconhecidos como orgânicos.

	Cádmio (ng g <sup>-1</sup> )	Chumbo (ng g <sup>-1</sup> )
<b>Batata</b>	8,6	11,8
<b>Pimentão verde</b>	12,1	<8,0
<b>Berinjela</b>	5,0	33,0
<b>Tomate</b>	3,2	<8,0

Fonte: Karavoltsos *et al.* (2008).

Os autores compararam os resultados encontrados na Tabela 1 com as análises envolvendo produtos orgânicos não reconhecidos pela legislação grega. As amostras de batata não reconhecidas como orgânicas apresentaram 60,5 ng g<sup>-1</sup> cádmio e 15,8 ng g<sup>-1</sup> chumbo, superando em muito as concentrações encontradas em batatas orgânicas reconhecidas pela legislação.

Chen *et al.* (2011) investigaram a presença de cádmio, chumbo, mercúrio e arsênio em diversos vegetais. Para a determinação de cádmio e chumbo, utilizaram GF AAS e para

mercúrio e arsênio, espectrometria de fluorescência atômica com geração de hidretos (HG AFS). As amostras foram digeridas em micro-ondas com ácido nítrico. Para o tomate, foram encontradas quantidades de 0,11 mg kg<sup>-1</sup> cádmio, 0,066 mg kg<sup>-1</sup> chumbo, 0,0020 mg kg<sup>-1</sup> mercúrio e 0,026 mg kg<sup>-1</sup> arsênio. A pimenta apresentou 0,0070 mg kg<sup>-1</sup> cádmio, 0,034 mg kg<sup>-1</sup> chumbo, 0,0020 mg kg<sup>-1</sup> mercúrio e 0,024 mg kg<sup>-1</sup> arsênio. Na berinjela, foi encontrado, 0,010 mg kg<sup>-1</sup> cádmio, 0,035 mg kg<sup>-1</sup> chumbo, 0,0020 mg kg<sup>-1</sup> mercúrio e 0,018 mg kg<sup>-1</sup> arsênio.

Santos *et al.* (2012) usando ICP-OES investigaram a presença de cádmio, chumbo, zinco, cobre, cromo, níquel e alumínio em amostras de pães e vegetais. No pimentão, foram encontradas concentrações de 0,28 mg kg<sup>-1</sup> cádmio, 5,6 mg kg<sup>-1</sup> chumbo, 9,5 mg kg<sup>-1</sup> cobre, 22 mg kg<sup>-1</sup> zinco, 0,95 mg kg<sup>-1</sup> níquel. Para cromo e alumínio, as concentrações encontradas estavam abaixo do limite de quantificação, sendo que, para o cromo, o limite de quantificação foi de 0,13 mg kg<sup>-1</sup> e para alumínio, foi de 0,34 mg kg<sup>-1</sup>. Neste caso, o pimentão apresentou concentrações de elementos traço acima dos limites recomendados para cádmio e chumbo na legislação vigente na época (0,2 mg kg<sup>-1</sup> e 0,5 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente), estipulados pelo Ministério da Saúde do Brasil, portaria nº 685, de 27 de agosto de 1998.

Araújo *et al.* (2013), investigaram a composição físico-química e resíduos de agrotóxicos em pimentões, alface e tomates cultivados pelo sistema orgânico e convencional. Foram determinados os minerais cobre, cromo, ferro, potássio, manganês, magnésio, sódio, zinco e os elementos potencialmente tóxicos cádmio, níquel e chumbo, por meio da F AAS e os resíduos de agrotóxico por cromatografia gasosa e líquida associada a detectores específicos por classe. Foi constatado que, com relação aos níveis de metais em pimentões, não houve diferença entre os dois tipos de cultivo para os teores de chumbo e cádmio, enquanto que, para níquel, foi encontrada uma concentração duas vezes maior em pimentões cultivados pelo sistema convencional. Não foram encontradas diferenças significativas entre o cultivo orgânico e convencional para o tomate, no entanto, ambos apresentaram teores elevados de manganês, ferro, cobre e cromo.

Norton *et al.* (2015), reportaram o estudo realizado em frutas e vegetais cultivados no sudoeste e no nordeste da Inglaterra, a fim de verificar as concentrações de cádmio e chumbo. O estudo foi conduzido pela técnica de ICP-MS. Foi realizada digestão ácida com ácido nítrico concentrado e peróxido de hidrogênio. Verificou-se que os vegetais que apresentaram maiores concentrações de cádmio foram os vegetais com estrutura de folha aberta. Com relação ao cádmio presente em batatas cultivadas no sudoeste, foram encontradas concentrações entre 1,8 ng g<sup>-1</sup> e 21 ng g<sup>-1</sup>, nas pimentas, as concentrações foram entre

1,8 ng g<sup>-1</sup> e 5,0 ng g<sup>-1</sup>, para o tomate, 1,8 ng g<sup>-1</sup> e 10 ng g<sup>-1</sup> e na região nordeste, para batata, de 1,8 ng g<sup>-1</sup> a 45 ng g<sup>-1</sup> e para o tomate, entre 1,8 ng g<sup>-1</sup> e 6,4 ng g<sup>-1</sup>. Para o chumbo, na região sudoeste, na batata, foram encontradas concentrações entre 4,0 ng g<sup>-1</sup> e 26,8 ng g<sup>-1</sup>, nas pimentas, entre 4,0 ng g<sup>-1</sup> e 10,7 ng g<sup>-1</sup> e no tomate, 4,0 ng g<sup>-1</sup>. Na região nordeste, as concentrações encontradas na batata, variaram entre 4,0 ng g<sup>-1</sup> e 67,7 ng g<sup>-1</sup> e para o tomate, as concentrações permaneceram em torno de 4,0 ng g<sup>-1</sup>.

Ahmad *et al.* (2016), determinaram a presença de chumbo, manganês, níquel, cobalto, cobre, cádmio, zinco, selênio, molibdênio, ferro, arsênio e cromo em berinjelas cultivadas em dois diferentes locais nas vizinhanças de Sardogha, Paquistão. As amostras foram higienizadas com água deionizada, secas em estufa, digeridas com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HNO<sub>3</sub> e HCl (1:2:1). Cromo, manganês, ferro, cobalto, níquel, cobre, zinco, molibdênio, cádmio e chumbo foram determinados por F AAS e selênio e arsênio, utilizando GF AAS. Foi verificado que o solo dos dois locais estudados apresentaram diferenças significativas nas concentrações de diversos metais, como ferro, cobalto, níquel, zinco, arsênio, selênio e chumbo, entretanto, não houve diferenças significativas para os metais cromo, manganês, cobre, molibdênio e cádmio. Para as amostras de berinjela cultivadas nestes locais, não houve diferenças significativas para selênio, molibdênio e cádmio, ao passo que para cromo, molibdênio, ferro, cobalto, níquel, cobre, zinco, arsênio e chumbo apresentaram diferenças significativas entre as berinjelas cultivadas nos diferentes locais. As concentrações variaram de 15 mg kg<sup>-1</sup> a 30 mg kg<sup>-1</sup> cromo, de 50 mg kg<sup>-1</sup> a 78 mg kg<sup>-1</sup> ferro, de 9 mg kg<sup>-1</sup> a 14 mg kg<sup>-1</sup> níquel, de 24 mg kg<sup>-1</sup> a 29 mg kg<sup>-1</sup> cobre, de 0,8 mg kg<sup>-1</sup> a 1 mg kg<sup>-1</sup> cádmio e de 8 mg kg<sup>-1</sup> a 19 mg kg<sup>-1</sup> chumbo. Dos metais investigados, apenas níquel, cobre, cádmio e chumbo apresentaram concentrações acima do estabelecido pela legislação.

Todos os procedimentos acima relatados envolvem dissolução da amostra e uso de reagentes, o que torna a análise mais lenta, laboriosa, custosa, devido à necessidade de reagentes ultrapuros, com a possibilidade de perdas do analito durante a manipulação, redução da sensibilidade, riscos de contaminação, além do comprometimento dos limites de detecção devido à diluição. Dentro deste contexto, deve-se priorizar o uso de técnicas analíticas que permitam evitar ao máximo o pré-tratamento, como por exemplo a GF AAS, que permite realizar análises diretas de sólidos (SS, do inglês *Solid Sampling*), a qual exige apenas secagem e moagem, reduzindo o risco de contaminações ou perda na sensibilidade devido a necessidade de realizar diluições.



## 2.5 A espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e análise direta de sólidos

A técnica da AAS consiste no princípio básico de que átomos no estado fundamental absorvem quantidades específicas de energia, passando para o estado excitado. Esta energia advém de uma fonte de radiação de frequência específica. A atenuação da intensidade de radiação emitida pela fonte, que é proporcional à quantidade de analito presente, torna possível a sua quantificação (WELZ, SPERLING, 1999).

A AAS convencional utiliza uma fonte de radiação específica para cada elemento, conhecida como fonte de linha (LS AAS), que faz uso de lâmpadas de cátodo oco (HCL, do inglês “*Hollow Cathode Lamp*”), que contam com um cátodo contendo um ou mais analitos, um ânodo que é frequentemente feito de tungstênio ou níquel e o cilindro de vidro que é preenchido com gás inerte, normalmente argônio ou neônio a pressão de 1 kPa. Na LS AA, utilizando lâmpadas de cátodo oco, o analito é volatilizado e excitado, emitindo o seu próprio espectro, este mecanismo torna a técnica altamente seletiva e dispensa o uso de monocromadores de alta resolução, pois parte-se do princípio de que outros elementos não podem absorver a energia específica emitida pela lâmpada (WELZ, SPERLING, 1999).

A fim de cumprir com o propósito de efetuar a atomização do analito para que ocorra o processo de absorção da radiação e leitura, pode-se fazer uso de diferentes atomizadores. Cada atomizador possui suas vantagens e desvantagens, a escolha dependerá das características das amostras a serem analisadas e da natureza e concentração dos elementos a serem determinados. O atomizador presente na F AAS é a chama, o instrumento contém um nebulizador que converte a amostra em um aerossol, que é posteriormente atomizado na chama. A GF AAS faz uso de fornos de grafite como atomizadores, que são tubos constituídos de grafite pirolítico, este tipo de atomizador permite a inserção direta da amostra, facilitando em muito o processo analítico. Tubos de grafite ou de quartzo são empregados na HG AAS, que consiste na conversão do analito à seu hidreto volátil (WELZ, SPERLING, 1999).

A GF AAS é uma alternativa muito atraente, pois está largamente disponível e é de uso fácil. É capaz de determinar baixas concentrações de metais em diversas matrizes, pois propicia a eliminação de boa parte da matriz durante a etapa de secagem e de pirólise, reduzindo assim a presença de possíveis interferências. A técnica permite também um maior tempo de residência dos átomos durante a etapa de atomização, conferindo assim uma maior sensibilidade (WELZ, SPERLING, 1999).

As etapas inerentes à GF AAS consistem em:

**Secagem:** esta etapa efetua a eliminação de todo solvente que exista na amostra e se foi necessária a aplicação de modificador, a secagem do mesmo, também é realizada neste momento. Se esta etapa não for bem feita e permanecerem resquícios de líquido, este pode vir a espirrar com o aumento da temperatura, espalhando amostra para fora da plataforma e deste modo, comprometer os resultados (WELZ, SPERLING, 1999).

**Pirólise:** após a etapa de secagem, a temperatura deve ser aumentada gradativamente, até atingir aquela que foi estipulada como a temperatura ideal de pirólise. Esta etapa elimina os concomitantes presentes na matriz, diminuindo as possíveis interferências, no entanto, esta temperatura não pode ocasionar a volatilização do analito (WELZ, SPERLING, 1999).

**Atomização:** depois da amostra estar dessolvatada e livre da matriz, segue-se ao processo de atomização, no qual eleva-se o forno a uma temperatura tal, que consiga transformar o analito e, eventualmente, a amostra sólida em vapor atômico. Este vapor atômico então, recebe uma quantidade específica de energia, advinda de uma fonte de radiação, como dito anteriormente, a atenuação da intensidade de radiação emitida pela fonte, que é proporcional à quantidade de analito presente, torna possível a sua quantificação (WELZ, SPERLING, 1999).

**Limpeza:** após a etapa de atomização, na qual ocorre a leitura da absorvância, eleva-se até uma temperatura tal, que elimine toda matéria remanescente, a fim de que não ocorra efeito de memória (WELZ, SPERLING, 1999).

Após o término destas etapas, é gerado no *software* um resultado, em absorvância integrada, proporcional à quantidade de analito presente na amostra.

A GF AAS passou por um período crítico, pois no início do desenvolvimento da técnica, surgiram problemas devido a falta de isothermicidade tanto temporal quanto espacial, resultando em problemas de reprodutibilidade do sinal e interferências. Como forma de resolver estes problemas, Walter Slavin, baseado nas observações experimentais de L'vov, apresentou o conceito STPF (forno com plataforma de temperatura estabilizada, do inglês – *stabilized temperature plataforma furnace*), que consiste no uso de tubos de grafite piroliticamente recobertos, tornando a superfície altamente impermeável e não reativa; uso de plataformas de L'vov, as quais tem a finalidade de retardar a atomização até que seja alcançada uma temperatura estável (isothermicidade temporal); o aquecimento transversal, evita que hajam partes mais frias no tubo de grafite (isothermicidade espacial); a potência máxima de aquecimento na etapa de atomização; uso de absorvância integrada na medida dos

sinais analíticos; interrupção do fluxo de gás interno, maximizando assim, o tempo de residência dos átomos no forno, melhorando a sensibilidade; sistema de detecção extremamente rápido; uso de modificadores químicos, que atuam aumentando a volatilidade da matriz ou diminuindo a volatilidade do analito, auxiliando na separação dos concomitantes e correção de fundo efetiva (WELZ, SPERLING, 1999).

A GF AAS é muito atrativa pois proporciona a possibilidade da análise direta de líquidos, gases e sólidos. No caso de amostras sólidas, que para a maioria das outras técnicas existentes exigiria a realização de digestões e diluições, na amostragem direta torna-se necessário, na maioria das vezes, apenas a secagem, moagem, pesagem e inserção no forno de grafite, dispensando manipulações laboriosas, propiciando maior rapidez à análise, reduzindo perdas do analito e riscos de contaminações. Além de apresentar um ganho na sensibilidade, visto que, não são necessárias diluições, dispensando o uso de reagentes ultrapuros, os quais muitas vezes possuem um alto custo, deste modo, o método torna-se menos custoso e muito mais seguro (SILVA *et al.*, 2005).

## **2.6 A Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS)**

Os equipamentos de AAS convencionais constituídos por fontes de linha eram a única opção existente até meados dos anos 2000, estes instrumentos apresentam vantagens como: i) ter um custo relativamente baixo, por requerer monocromadores de baixa resolução; ii) possuir alta sensibilidade e seletividade devido ao uso da fonte de linha específica e o princípio da modulação; iii) apresentar redução da ocorrência de interferências espectrais pela baixa probabilidade de ocorrer sobreposição de linhas de outros elementos. No entanto, também apresentam algumas limitações: i) necessidade de uma lâmpada para cada analito, o que juntamente com a reduzida vida útil, acabam por comprometer a técnica; ii) característica monoelementar; iii) pouca informação disponível do ambiente espectral, devido a absorção ser medida em intervalos espectrais pequenos (WELZ, SPERLING, 1999).

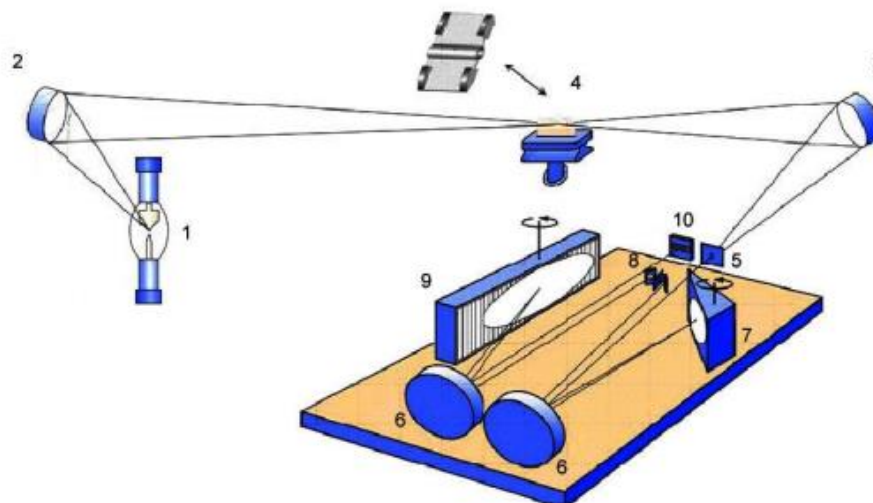
Dentro deste contexto, surgiu a espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS, do inglês “*High Resolution Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry*”), que teve seu primeiro espectrômetro comercializado no ano de 2004 pela empresa alemã Analytik Jena (Jena, Alemanha). A HR-CS AAS trouxe novas expectativas para a técnica de AAS, como a possibilidade de alcançar melhores níveis de

precisão e limites de detecção, devido à maior intensidade de radiação da lâmpada de arco-curto de xenônio de alta pressão operando em modo *hot spot*, a qual emite radiação numa faixa contínua de 190 nm a 900 nm. A lâmpada oferece, quando comparada às lâmpadas de cátodo oco, uma intensidade de emissão de cerca de 1 a 3 ordens de magnitude maior (BORGES *et al.*, 2005).

A radiação, após ser emitida e passar pelo atomizador é dirigida a um monocromador duplo de alta resolução denominado DEMON (*Double-Echelle Monochromator*), que fornece a alta resolução do intervalo espectral selecionado, o qual incidirá em um prisma, que selecionará o espectro de interesse em uma rede de difração *echelle* (Figura 1) (BORGES *et al.*, 2005; WELZ *et al.*, 2005).

Após, a radiação emitida e transmitida, atinge o detector, que é constituído por um arranjo linear de dispositivos de carga acoplada (CCD), operando com 588 detectores independentes, possibilitando assim toda visualização do ambiente espectral no qual a linha analítica está contida, ou seja, a combinação da alta resolução do monocromador com a capacidade do detector permite a adição de uma terceira dimensão aos resultados: o comprimento de onda. Nos equipamentos convencionais, é possível avaliar apenas a absorvância *versus* tempo, com a adição da terceira dimensão, torna-se possível monitorar simultaneamente mais de um comprimento de onda, desde que estejam no mesmo intervalo espectral e também, aumentar ou reduzir a sensibilidade analítica, por meio da escolha do número de pixels avaliados, que constituem as unidades fotossensíveis do detector, possibilitando assim, a flexibilização dos parâmetros de mérito. Ademais, conta com um *software* que permite o processamento total dos dados após a leitura e também, correção automática para eventos contínuos, uma vez que, todos os pixels são iluminados e lidos simultaneamente, somente alguns deles são utilizados para medir absorção atômica, por isso, os pixels restantes, podem ser utilizados para efetuar correções de eventos contínuos e flutuações na lâmpada. Além disso, apresenta a possibilidade de uso de linhas secundárias, sem perdas de precisão e diminuição das interferências espectrais (BORGES *et al.*, 2005; WELZ *et al.*, 2005).

Outra vantagem inerente a técnica, é a correção de interferências moleculares com estruturas rotacionais finas, as quais, nenhum corretor de fundo utilizado na LS AAS consegue corrigir. Na HR-CS AAS este tipo de fundo pode ser corrigido por meio do uso do algoritmo de mínimos quadrados (LSBC, do inglês *Last square background correction*), o qual consiste na criação de um espectro de referência, utilizando um composto puro, o qual será armazenado e deduzido do espectro da amostra (WELZ *et al.*, 2005).



**Figura 1:** Representação esquemática de um espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS). Sendo: (1): lâmpada de arco curto de Xe; (2,3) espelhos elipsoidais focalizadores; (4) atomizador (chama ou forno de grafite); (5) fenda de entrada; (6) espelhos parabólicos; (7) prisma; (8) fenda intermediária ajustável; (9) rede *echelle* e (10) detector CCD. (Adaptado de Borges *et al.*, 2005)

A HR-CS AAS permite a realização de análises multielementares, pois todas as linhas analíticas de todos os elementos estão disponíveis na fonte de radiação primária, este tipo de análise pode ocorrer em três diferentes situações: i) os analitos possuem linhas analíticas próximas que aparecem dentro do mesmo intervalo espectral coberto pelo detector CCD e volatilidades semelhantes. Neste caso, a análise é considerada simultânea, visto que dois ou mais analitos são atomizados juntos e têm seu valor de absorvância registrado simultaneamente; ii) os analitos possuem linhas analíticas próximas, mas volatilidades diferentes. Nesta situação, também considerada como análise simultânea, aplica-se duas etapas de atomização, assim cada elemento terá sua absorvância registrada nas respectivas temperaturas de atomização otimizadas; iii) os analitos apresentam volatilidades diferentes e linhas analíticas distantes, ou seja, as linhas analíticas não aparecem no mesmo intervalo espectral coberto pelo detector CCD. Neste caso, a determinação é sequencial, empregando condições otimizadas para cada um, além da troca de linha analítica entre os dois ciclos de atomização (WELZ *et al.* 2005; WELZ *et al.* 2014).

Deste modo, a realização de análises simultâneas requer alguns requisitos, tais como, as linhas analíticas dos elementos analisados serem próximas, ou seja, estarem na mesma janela espectral, pois o instrumento permite o monitoramento de aproximadamente 1 nm do

espectro e a diferença de sensibilidade entre as linhas analíticas precisa ser proporcional a taxa de concentração dos analitos nas amostras, a fim de que seja possível detectar o analito na linha de menor sensibilidade (GOMÉZ-NIETO *et al.*, 2013; RESANO *et al.*, 2011; dos SANTOS *et al.*, 2009).

Análises diretas e simultâneas utilizando a HR-CS SS-GF AAS já foram aplicadas em alimentos como farinhas, para a determinação de Cu e Fe por dos Santos *et al.* (2016), em vinhos, para a determinação de Mo e Ni por Boschetti *et al.* (2014) e a determinação simultânea de Ni e Fe utilizando parâmetros similares aos utilizados neste trabalho, foi aplicada apenas para a realização de um estudo em amostras biológicas, como os líquens por Gómez-Nieto *et al.* (2013) e em fluoropolímeros por Soares *et al.* (2016).

Levando em consideração que não foi encontrado nenhum estudo utilizando a HR-CS SS-GF AAS em vegetais pertencentes a família *Solanaceae* e considerando a grande importância destes vegetais, justifica-se a relevância da realização de uma pesquisa focada neste assunto.

### 3 OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo principal, o desenvolvimento de métodos analíticos confiáveis, rápidos e aplicáveis à análise de rotina para determinação de Cd, Cr, Cu, Ni e Fe em amostras de vegetais da família *Solanaceae*, cultivados pelo método convencional e orgânico, utilizando HR-CS SS-GF AAS. Os vegetais escolhidos foram: pimentão verde, vermelho e amarelo, tomate, batata, berinjela, pimenta e *physalis*. Para tanto, foram traçadas as seguintes metas:

- i)** Investigação sistemática para otimização e estabelecimento de métodos analíticos para a determinação de elementos traço usando HR-CS GF AAS via análise direta de sólidos;
- ii)** Estudo da possibilidade de emprego de modificadores químicos para a estabilização térmica dos elementos;
- iii)** Estabelecimento dos parâmetros de mérito para os métodos desenvolvidos. A verificação da exatidão será realizada usando-se materiais de referência certificados;
- iv)** Aplicação dos métodos desenvolvidos para a quantificação dos elementos Cd, Cr, Cu, Ni e Fe nas diferentes amostras cultivadas de modo convencional obtidas em mercados da cidade de Porto Alegre e em amostras cultivadas de modo orgânico, obtidos em feiras orgânicas, além da aplicação de testes estatísticos nos resultados;

- v) Comparar os resultados encontrados com o valor máximo estabelecido conforme legislações específicas;
- vi) Desenvolver estudos que resultem em artigos científicos em periódicos indexados e comunicações em congressos nacionais e internacionais.

#### 4 METODOLOGIA

Para a realização das medidas foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua com forno de grafite, modelo ContraAA 700 (Analytik Jena AG, Jena, Alemanha). Todos os experimentos foram realizados utilizando tubos de grafite recobertos piroliticamente para amostragem sólida (Analytik Jena, Part No. 407-A81.303) e plataformas de grafite para amostragem sólida (Analytik Jena, Part No. 407-152.023).

As amostras foram diretamente pesadas na plataforma de grafite usando micro balança modelo M2P (Sartorius, Göttingen, Alemanha). As plataformas foram inseridas no atomizador com o auxílio de pinças pré-ajustadas, modelo SSA6 (Analytik Jena AG, Jena, Alemanha). Foi utilizado argônio (99,996%, White Martins, São Paulo, Brasil) como gás de purga e proteção com fluxo de  $2,0 \text{ L min}^{-1}$  durante todas as etapas, exceto durante a atomização. A absorvância integrada (área do pico) foi utilizada exclusivamente para a avaliação do sinal.

Foi utilizada água ultrapura, obtida a partir de um sistema de purificação de água Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA), em todos os experimentos, assim como padrões e reagentes de grau analítico. Todos os frascos e vidrarias foram mantidos em banho de ácido nítrico  $1,4 \text{ mol L}^{-1}$  por 24 horas e enxaguados com água deionizada antes de sua utilização. Os padrões aquosos e modificadores utilizados foram colocados diretamente na plataforma com o auxílio de micropipetas com pontas descartáveis.

A calibração dos métodos foi realizada utilizando-se soluções padrão aquosas. Os parâmetros de mérito como o limite de detecção (LOD, do inglês “*Limit of Detection*”), consiste na quantidade mínima detectável com uma dada certeza analítica e o limite de quantificação (LOQ, do inglês “*Limit of Quantification*”), definido como a menor massa ou concentração do analito que pode ser determinada quantitativamente, com um risco de erro inferior a 5%. O LOD e o LOQ foram obtidos, respectivamente, através das Equações 1 e 2. A massa característica ( $m_0$ ), que corresponde a massa de analito necessária para produzir um sinal de absorvância integrada de 0,0044 s, que corresponde a 1% de absorção, foi obtida por

meio de uma regra de três (relacionando um dos padrões da curva de calibração com a absorvância integrada de 0,0044 s) (IUPAC, 1997).

$$\text{Equação 1: } \text{LOD} = \frac{3\sigma}{S}$$

$$\text{Equação 2: } \text{LOQ} = \frac{10\sigma}{S}$$

Considerando  $\sigma$ , o desvio padrão de dez medidas do branco, obtidas por meio da técnica de “resposta de massa zero”, a qual é feita realizando-se medidas da plataforma vazia ou contendo apenas o modificador químico utilizado e S representa o coeficiente angular da curva de calibração. Para obtenção dos LOD e LOQ em valores relativos, foi utilizado o princípio de massa máxima empregada (WELZ, SPERLING, 1999).

As amostras de vegetais cultivados de maneira convencional e orgânica foram: pimentão verde, vermelho e amarelo, tomate, batata, pimenta, berinjela e physalis. Os vegetais convencionais foram obtidos em mercados e os vegetais orgânicos (todos contendo selo de certificação orgânica) foram adquiridos em feiras orgânicas, todos estabelecimentos localizados na cidade de Porto Alegre/RS. Foram recolhidos 3 exemplares de cada espécie de vegetais (totalizando 48 amostras), oriundos de diferentes locais, a fim de verificar se as concentrações apresentariam variação, se submetidas a diferentes ambientes de cultivo.

Como preparo de amostra, os vegetais adquiridos foram mantidos sob refrigeração e manipulados no laboratório de Química Analítica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. No momento do preparo das amostras os vegetais foram lavados com água deionizada, porcionados com o auxílio de uma espátula de cerâmica, colocados em placas de Petri e congelados. Após estarem completamente congelados, foram liofilizados por 24 horas em um liofilizador marca Model ModulyonD (Thermo Electron Corporation, EUA). Após a liofilização, os vegetais foram moídos em micro moinho A-11 Basic (IKA-Werke, Staufen, Alemanha). Foram utilizados 3 ciclos de moagem, com duração de 15 s cada e intervalo de 5 min após cada ciclo, com o propósito de resfriar o motor do moinho, evitando danos ao aparelho. Em seguida, as amostras de pimentão, pimenta e physalis foram colocadas em uma estufa a 60 °C, durante 1 hora e moídas em um gral de ágata, a fim de diminuir ainda mais o tamanho de partícula. Após isso, as amostras foram peneiradas em malha de poliéster de 200  $\mu\text{m}$ , armazenadas em tubos plásticos e mantidas em um dessecador até o momento da análise.

Os materiais de referência certificados utilizados para otimização e validação dos métodos, foram NIST 1570a *Spinach leaves*, para a determinação de Cd e Cu; CTA-VTL-2



*Virginia Tobacco leaves*, para a determinação de Cr e NIST 1573a *Tomato leaves*, para a determinação de Ni e Fe.

## 5. ARTIGOS CIENTÍFICOS

### 5.1 Artigo 1

**Título:** Determination of cadmium, chromium and copper in vegetables of the Solanaceae family using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis. Publicado na revista Analytical Methods, volume 9, páginas 329-337, em 2016.

#### Destaques

- A técnica HR-CS SS-GF AAS foi utilizada para a determinação de Cd, Cr e Cu em vegetais da família Solanaceae.
- Foram analisadas amostras de pimentão verde, vermelho e amarelo, tomate, batata, berinjela, pimenta e physalis, cultivados pelo sistema convencional e orgânico de produção.
- Os métodos desenvolvidos priorizam o mínimo uso de reagents e preparo de amostra, além disto, soluções padrão aquosas foram utilizadas para calibração.
- Algumas amostras apresentaram concentrações acima dos limites estabelecidos por legislações específicas para Cd, Cr e Cu.

CrossMark  
click for updatesCite this: *Anal. Methods*, 2017, 9, 329

# Determination of cadmium, chromium and copper in vegetables of the Solanaceae family using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis†

Marianna Pozzatti,<sup>a</sup> Aline R. Borges,<sup>b</sup> Morgana B. Dessuy,<sup>c</sup> Maria Goreti R. Vale<sup>\*cd</sup> and Bernhard Welz<sup>de</sup>

Three methods have been developed for the determination of cadmium, chromium and copper in vegetables of the Solanaceae family, such as bell pepper, physalis, eggplant, potato, tomato and red pepper, cultivated in conventional and organic farming systems. The samples were lyophilized, milled and the particle size was controlled using a 200  $\mu\text{m}$  polyester sieve. The determination was established using a high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometer and direct solid sample analysis. The analytical lines at 228.802 nm, 357.869 nm and 327.396 nm were used for Cd, Cr and Cu, respectively. Pyrolysis and atomization temperatures were optimized for all target elements. The calibration curves were obtained with aqueous standard solutions. The characteristic masses obtained were 0.42 pg, 2.7 pg and 19 pg for Cd, Cr and Cu, respectively. The trueness of the methods was confirmed by the analysis of certified reference materials. The concentrations in the vegetables were between 0.78–300  $\mu\text{g kg}^{-1}$  for Cd, 0.063–1.05  $\mu\text{g g}^{-1}$  for Cr and 4.5–18.4  $\mu\text{g g}^{-1}$  for Cu. Some samples presented analyte concentrations above the maximum permitted by legislation. The proposed methods were accurate, simple, fast and sensitive; only a minimum sample preparation was necessary, reducing considerably the sample manipulation and/or dilution.

Received 16th September 2016  
Accepted 23rd November 2016

DOI: 10.1039/c6ay02594c

[www.rsc.org/methods](http://www.rsc.org/methods)

## 1. Introduction

Grouping vegetables into their botanical families is useful as closely related plants within a family often share both similar cultural requirements and the same or similar pest and disease problems. Recognizing botanical families is of great importance because adequate and effective crop rotation (alternating planting families) prevents pests acting on subsequent crops.<sup>1</sup> In this work the Solanaceae family is highlighted, which comprises bell pepper, tomato, potato, physalis, eggplant, pepper, and others. These vegetables are much appreciated because they account for a large amount of nutrients, such as

vitamins and minerals.<sup>2</sup> With the growing demand for healthy foods, vegetable consumption also increases; therefore a high agricultural production is required. Basically, there are two forms of crops: (i) conventional one, on which fertilizers and pesticides are applied;<sup>3</sup> and (ii) organic cultivation, in which biological processes replace technological inputs as synthetic fertilizers and/or pesticides. Fertilizers have essential nutrients for plant growth such as macronutrients (N, P, K, S, Ca and Mg) and micronutrients (Cu, Fe, Zn and Mo);<sup>4</sup> pesticides are also widely used and both together ensure good crops. As a result, in Brazil, conventional production moves an annual average of 15 million tons of vegetables with a total wholesale value of US\$ 2.6 billion,<sup>5</sup> while the organic market moves around US\$ 0.5 billion.<sup>6</sup>

Although conventional crops are more widespread, it is necessary to take into account that they make use of synthetic fertilizers that could contain potentially toxic metals such as Cd, Cr, Tl and Pb,<sup>7–9</sup> and pesticides. Consequently, the form of agricultural origin food crop can affect their chemical composition. There are few studies reported in the literature comparing the metal concentration in products from organic and conventional cultivation. Karavoltosos *et al.*<sup>10</sup> studied the elements Cd and Pb in conventional, certified and uncertified

<sup>a</sup>Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

<sup>b</sup>Departamento de Química, Instituto Federal do Paraná, Palmas, PR, Brazil

<sup>c</sup>Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. E-mail: mgrvale@ufrgs.br; Fax: +55 51 3308-7304; Tel: +55 51 3308-6278

<sup>d</sup>Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do CNPq-INCT de Energia e Ambiente, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brazil

<sup>e</sup>Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brazil

† Electronic supplementary information (ESI) available. See DOI: 10.1039/c6ay02594c

organically grown foodstuffs. They analyzed different foods, among them vegetables such as potato, green bell pepper, tomato and eggplant. It was observed that in the 52 kinds of foodstuffs and beverages analyzed, mostly, organic products had lower concentrations of Cd and Pb, compared to conventionally grown ones. However, products marketed as organic, but not certified by legislation, presented higher levels of Cd and Pb than conventional and certified organic products. Araújo *et al.*<sup>11</sup> investigated the physico-chemical composition and pesticide residues in conventional and organic peppers, lettuces and tomatoes. Variations were found related to mineral and heavy metal concentrations. Therefore, heavy metals cannot be eliminated taking into account only the production system. Ilić *et al.*<sup>12</sup> studied the differences in the heavy metal and nitrate contents in organic and conventional varieties of tomatoes. The vegetables were oven dried, ground and digested in a 1 : 3 HNO<sub>3</sub> and HCl mixture. According to the study, organically grown tomatoes had lower concentrations of Pb, Zn, Cu and Ni and about 30–40% less nitrates. However, the predominant influence on the amount of heavy metals and nitrates would be the tomato species and not the cultivation system. Barański *et al.*<sup>13</sup> systematically reviewed 343 articles published between 1992 and 2011 involving the influence of organic and conventional farming on the concentration of antioxidants, minerals, heavy metals, and pesticide residues. It was observed that for potentially toxic metals and pesticides, the analysis detected a tendency that the Cd concentration in organic crops was lower, however, when cereals, vegetables and fruits were analyzed separately, significant differences were found only for cereals. For As and Pb, no differences were detected between the organic and conventional farming systems. With respect to the presence of pesticide residues, conventionally grown plants had about four times more pesticides than organically grown ones. Fruits were found to have a higher frequency of pesticide contamination than vegetables. For other minerals, organically grown crops have lower amounts of Mn, Cr and Sr and higher concentrations of Zn, Ga, Mg, Mo and Rb.

In order to monitor the metal concentration in vegetables, different analytical techniques can be employed, such as: graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF AAS), hydride generation atomic fluorescence spectrometry (HG AFS), inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES), flame atomic absorption spectrometry (F AAS) and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Karavoltos *et al.*<sup>10</sup> used GF AAS for the determination of Cd and Pb in conventional, certified and uncertified organically grown foodstuffs. The samples of cereals, meat, eggs, dairy products, oils and vegetables were subjected to digestion on a hot plate overnight before the analysis. Chen *et al.*<sup>14</sup> determined Cd, Pb, As and Hg in samples of fruits, meat, and seafood. The samples were subjected to microwave-assisted acid digestion using nitric acid. Cd and Pb were determined by GF AAS and As and Hg by HG AFS. Santos *et al.*<sup>15</sup> applied ICP OES for the determination of Cd, Pb, Cu, Zn, Cr, Ni and Al in bread and vegetable samples after an acid mineralization procedure in a digester block. Araújo *et al.*<sup>11</sup> investigated the elements Cu, Cr, Fe, K, Mg, Mn, Na, Cd, Ni and Pb in organically and conventionally grown

peppers, lettuces and tomatoes. The samples were subjected to a standard method (AOAC, 2000 and 975.03B) using F AAS. ICP-MS was used for the determination of Cd and Pb in fruits and vegetables; the sample pretreatment applied was microwave-assisted digestion with nitric acid and hydrogen peroxide.<sup>16</sup> Most of these techniques involve sample digestion procedures that might introduce systematic errors due to contamination, incomplete analyte extraction or solubility and are also time-consuming.<sup>17,18</sup>

Prioritizing minimum reagent consumption and the reduction of sample manipulation, direct solid sample (SS) analysis with GF AAS is being increasingly used for the determination of trace elements.<sup>19–21</sup> This technique presents other advantages: (i) faster analysis; (ii) reduced risk of contamination and analyte losses; (iii) higher sensitivity since samples are not diluted; (iv) a smaller amount of sample is required; (v) the use of corrosive or hazardous reagents is avoided or reduced.<sup>22,23</sup> On the other hand, the main limitations of direct SS analysis were for a long time considered to be the higher risk of spectral interference and the difficulty to find appropriate standards for calibration. However, it is well established that aqueous standard solutions can be employed when all the steps of the graphite furnace temperature program and chemical modifiers are carefully optimized. These measures also help to reduce spectral interferences. Moreover, the introduction of high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry (HR-CS GF AAS) has further simplified direct SS analysis. This technique uses a linear charge-coupled device (CCD) array detector, a high-intensity xenon short-arc lamp and a high-resolution double monochromator, offering an efficient background correction. It also makes possible three-dimensional viewing of the environment of the analytical line and reaching better limits of detection (LOD).<sup>24,25</sup>

The goal of this work was to develop analytical methods for the determination of Cd, Cu and Cr in vegetables of the Solanaceae family (bell pepper, potato, tomato, physalis, pepper and eggplant) cultivated in conventional and organic farming systems, using HR-CS GF AAS and direct SS analysis. The possibility of using calibration with aqueous standard solutions was studied, and to confirm the trueness of the method, certified reference materials were analyzed.

## 2. Experimental

### 2.1. Instrumentation

All measurements were carried out using a Model contrAA 700 high-resolution continuum source atomic absorption spectrometer (Analytik Jena, Jena, Germany) equipped with a xenon short-arc lamp with a nominal power of 300 W, operating in a hot-spot mode. The double monochromator (prism and echelle grating), combined with a CCD array detector with 588 pixels, gives a high-resolution to the technique. The primary analytical lines were used for Cd (228.802 nm) and Cr (357.869 nm) and for Cu the secondary absorption line at 327.396 nm (45% relative sensitivity) was used. The integrated absorbance ( $A_{\text{int}}$ ) of Cd and Cr was measured using the center pixel  $\pm 1$  and, for Cu only the center pixel was used.

All experiments were carried out using SS graphite tubes without a dosing hole (part number: 407-A81.303, Analytik Jena) and SS graphite platforms (part number: 407-152.023, Analytik Jena), both pyrolytically coated. An M2P microbalance (Sartorius, Göttingen, Germany) was used for weighing the samples directly onto the SS platforms. A pre-adjusted pair of tweezers, which is part of the SSA 6 manual solid sampling accessory (Analytik Jena) was used to transfer the SS platforms to the atomizer. Argon (99.996%, White Martins, São Paulo, Brazil) was used as the purge and protective gas throughout. Since it is not possible to weigh and introduce always the same sample mass into the graphite furnace, the  $A_{\text{int}}$  values were normalized for an adequately defined mass, which varied for each sample. Aqueous standard solutions and chemical modifier solutions were injected manually onto the SS platform using micropipettes with disposable tips.

## 2.2. Reagents, analytical solutions and samples

All reagents were of analytical grade. High-purity deionized water, purified in a Milli-Q system (Millipore, Bedford, USA), and nitric acid (Merck, Darmstadt, Germany), purified by sub-boiling distillation in a quartz still (Kürner Analysentechnik, Rosenheim, Germany), were used to prepare all solutions. Calibration solutions were prepared in deionized water with 0.5% (v/v)  $\text{HNO}_3$  by serial dilution of the stock solutions with  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  Cd,  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  Cr and  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  Cu, all from Specsol (Brazil). For Cd, a modifier solution containing 0.05% (m/v)  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  + 0.03% (m/v)  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  was prepared by dilution of  $10 \text{ g L}^{-1}$   $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  and  $10 \text{ g L}^{-1}$   $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  stock solutions (Merck).

The conventionally grown vegetables (red, yellow and green bell pepper, red pepper, physalis, potato, tomato and eggplant) were obtained from local markets and the organically grown vegetables were obtained from local farms. For each type of vegetable three samples from three different locations were collected.

The samples were portioned with the help of a plastic spatula, placed in Petri dishes, and lyophilized for 24 hours using a freeze dryer Model ModulyoD (Thermo Electron Corporation, USA). Then, the samples were milled with a micro-mill Model A-11 Basic (IKA-Werke, Staufen, Germany) and sieved through a  $200 \mu\text{m}$  polyester sieve. The samples were kept in a desiccator until they were analyzed. It should be stressed that this kind of sample preparation is kind of standard for any kind of vegetable or plant analysis in general, as all analytical results are reported based on 'dry weight'. Only in the case of direct SS analysis is this the only pretreatment necessary, whereas in all other cases, such as acid digestion, alkaline fusion *etc.* additional reagents have to be added with the risk of contamination, additional equipment has to be used and more time is involved in the additional treatment, which might also include the risk of losses of the analyte.

In order to verify the trueness of the methods, for Cd and Cu, a certified reference material (CRM) of Spinach Leaves (NIST SRM 1570a) was used and for Cr the CRM CTA-VTL-2, Virginia tobacco leaves.

**Table 1** Graphite furnace temperature program for the determination of Cd, Cr and Cu in vegetables of the Solanaceae family by HR-CS SS-GF AAS

Stage	Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )	Ramp ( $^{\circ}\text{C s}^{-1}$ )	Hold time (s)	Gas flow rate ( $\text{L min}^{-1}$ )
Drying 1	90	3	$20^{a,c}$ ; $10^b$	2
Drying 2	110	5	10	2
Pyrolysis	$1000^a$ ; $1700^b$ ; $1100^c$	300	$10^a$ ; $5^{b,c}$	2
Atomization	$1500^a$ ; $2600^b$ ; $2400^c$	3000	$9^{a,c}$ ; $8^b$	$0.1^{a,b}$ ; $1^c$
Cleaning	$2450^{a,c}$ ; $2650^b$	1000	$4^a$ ; $8^b$ ; $6^c$	2

<sup>a</sup> Cd. <sup>b</sup> Cr. <sup>c</sup> Cu.

## 2.3. Procedure

The green bell pepper sample was used for method optimization. Aliquots between 0.009 and 0.8 mg (Cd), 0.05–1 mg (Cr) and 0.01–0.2 mg (Cu), depending on the analyte concentration, were weighed directly onto the SS platforms and transferred to the graphite furnace as described in Section 2.1. The Pd + Mg modifier was used only for Cd determination; in this case, the sample was first weighed onto the SS platform and then  $10 \mu\text{L}$  of 0.05% (m/v)  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  + 0.03% (m/v)  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  chemical modifier solution (corresponding to  $5 \mu\text{g}$  Pd and  $3 \mu\text{g}$  Mg) was added over the sample, and the platform was inserted onto the graphite furnace and subjected to the heating program presented in Table 1. For Cu measurements, due to its high concentration in the samples, a minimum gas flow rate was employed in the atomization stage (Table 1). Each sample was analyzed at least five times. Calibration curves have been established using 8 solutions between 0.2 and  $6.0 \mu\text{g L}^{-1}$  (2–60 pg) for Cd, 9 solutions between 3.0 and  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  (0.03–0.5 pg) for Cr and 8 solutions between 50 and  $400 \mu\text{g L}^{-1}$  (0.5–4 ng) for Cu.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Cadmium

**3.1.1. Mass of chemical modifier for Cd.** For volatile elements such as Cd, the presence of chemical modifiers is important to provide thermal stabilization at higher pyrolysis temperatures, in order to achieve proper matrix elimination.<sup>26</sup> For this study, the universal chemical modifier (Pd + Mg) was chosen due to the good results already achieved.<sup>27,28</sup> The chemical modifier was pipetted onto the solid sample on the platform. The mass of chemical modifier has been optimized using aqueous standard solution, NIST SRM 1570a and the green bell pepper sample. For this purpose, the following masses of chemical modifier were investigated: (i) without modifier; (ii)  $5 \mu\text{g}$  Pd and  $3 \mu\text{g}$  Mg; (iii)  $10 \mu\text{g}$  Pd and  $6 \mu\text{g}$  Mg and (iv)  $20 \mu\text{g}$  Pd and  $12 \mu\text{g}$  Mg. The results are shown in Fig. 1.

The presence of the chemical modifier resulted in a significant increase in sensitivity for the green bell pepper sample and the NIST SRM 1570a, however higher masses of the modifier caused a decrease of  $A_{\text{int}}$  values. For the standard solutions the  $A_{\text{int}}$  values without a chemical modifier were slightly higher

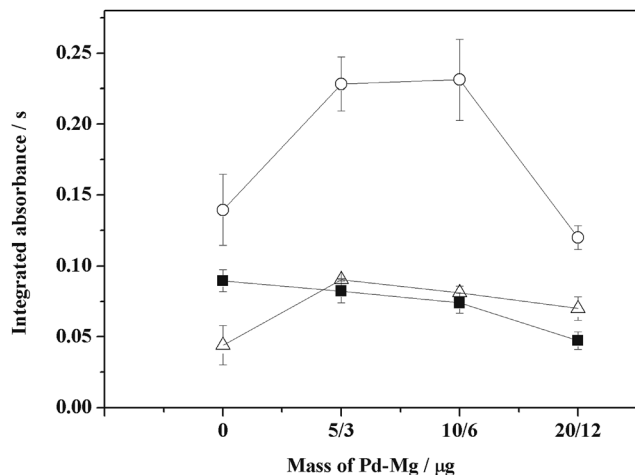


Fig. 1 Study of Pd–Mg chemical modifier masses for Cd: (■) 8.0 pg Cd aqueous solution; ( $\Delta$ ) integrated absorbance normalized for 0.1 mg of green bell pepper; (○) integrated absorbance normalized for 0.01 mg of CRM NIST 1570a Cd.  $T_{\text{pyr}}$ : 800 °C/ $T_{\text{at}}$ : 1600 °C.

than those obtained with 5  $\mu\text{g}$  Pd and 3  $\mu\text{g}$  Mg, but it was also observed that the peak shape improved in the presence of the modifier. Thus, considering this and the significant increase in sensitivity for the sample and CRM, 5  $\mu\text{g}$  Pd and 3  $\mu\text{g}$  Mg were chosen as optimum modifier masses and it was used in all further experiments for Cd.

**3.1.2. Optimization of the temperature program.** The pyrolysis curves (Fig. 2) were obtained using an atomization temperature of 1600 °C, recommended by the instrument manufacturer, and a mixture of 5  $\mu\text{g}$  Pd and 3  $\mu\text{g}$  Mg as the chemical modifier. The investigation was performed using the aqueous standard solution of Cd and the green bell pepper sample. The curves for the aqueous standard solution and the sample are very similar; the temperatures that provided the

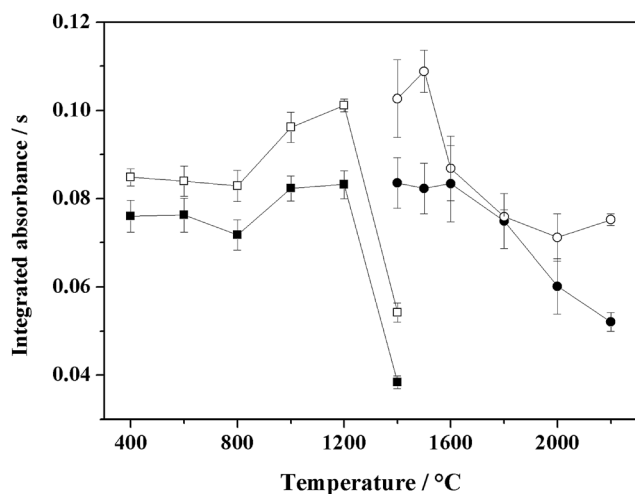


Fig. 2 Pyrolysis (■□) and atomization (●○) curves for Cd: (■●) 8.0 pg Cd in aqueous standard solution; (□○) integrated absorbance normalized for 0.1 mg of green bell pepper.  $T_{\text{at}}$ : 1600 °C and  $T_{\text{pyr}}$ : 1000 °C. Chemical modifier: 5  $\mu\text{g}$  Pd + 3  $\mu\text{g}$ .

highest sensitivities were between 1000 °C and 1200 °C, where there is a kind of plateau. Considering that there was no spectral interference, the temperature of 1000 °C was chosen. The optimized pyrolysis temperature of 1000 °C is higher than that of 600–700 °C, normally found with Pd–Mg as the chemical modifier.<sup>7,17,29</sup>

Fig. 2 shows also the atomization curves of Cd for an aqueous standard solution and the green bell pepper. The atomization curves were obtained using the previously optimized pyrolysis temperature of 1000 °C, and 5  $\mu\text{g}$  Pd and 3  $\mu\text{g}$  Mg as the chemical modifier. For the aqueous standard solution, temperatures between 1400 °C and 1600 °C presented similar  $A_{\text{int}}$  values; however, at 1400 °C a very broad peak was obtained. For the green bell pepper, the highest  $A_{\text{int}}$  values were obtained at 1400 °C and 1500 °C and, at 1600 °C the signal decreased. As the temperature of 1500 °C presented the highest  $A_{\text{int}}$  values, it was chosen as optimum. This result is in agreement with that reported by others.<sup>7,17,29</sup>

### 3.2. Chromium

No chemical modifier was investigated for Cr, as it is well established that Cr presents high thermal stability.<sup>30,31</sup> For the determination of Cr, pyrolysis curves were established with an aqueous standard solution and the green bell pepper using an atomization temperature of 2500 °C. As can be seen in Fig. 3, the sample and standard presented very similar thermal behavior: the  $A_{\text{int}}$  values increase with temperature, reaching a maximum at 1700 °C. This temperature was used to establish the atomization curves for the aqueous standard solution and the sample, which are also shown in Fig. 3.

The highest  $A_{\text{int}}$  values were obtained at 2600 °C for both the aqueous standard and sample. Moreover, at this temperature, the peak profiles were more symmetrical, and for the sample, the RSD was lower than that at 2500 °C, while for the aqueous solution they were very similar at both temperatures (RSD < 3.5).

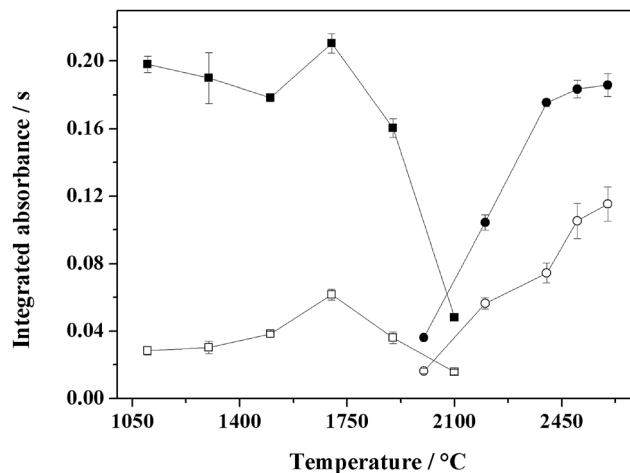


Fig. 3 Pyrolysis (■□) and atomization (●○) curves for Cr: (■●) 0.1 ng Cr in aqueous standard solution; (□○) integrated absorbance normalized for 0.1 mg of green bell pepper.  $T_{\text{at}}$ : 2500 °C and  $T_{\text{pyr}}$ : 1700 °C.



Thus, the optimized pyrolysis and atomization temperatures chosen for chromium were 1700 °C and 2600 °C, respectively, which are similar to those used by Virgilio *et al.*<sup>32</sup> for determining Cr in medicinal plants (1500 °C and 2400 °C).

### 3.3. Copper

Due to the high concentration of Cu in the vegetables, the secondary line at 327.396 nm with 45% sensitivity was used in order to decrease the sensitivity of the method. Additionally, only the center pixel was used to evaluate the analytical signal and a minimum gas flow rate was employed in the atomization stage.

For the determination of Cu, pyrolysis curves (Fig. 4) were established with an aqueous standard solution and the green bell pepper using an atomization temperature of 2300 °C; pyrolysis temperatures between 700° and 1700 °C were investigated. There was no significant variation in the  $A_{\text{int}}$  values for temperatures between 700 and 1100 °C and they decreased at higher temperatures. The atomization curves for the aqueous standard solution and the sample are also presented in Fig. 4. A plateau was observed for temperatures between 2000 °C and 2400 °C; however, at 2400 °C better peak profiles and RSD values were obtained. Souza *et al.*<sup>33</sup> obtained very similar pyrolysis (1300 °C) and atomization (2400 °C) temperatures for the determination of Cu in phosphate fertilizers. The pyrolysis and atomization temperatures of 1100 °C and 2400 °C, respectively, have been chosen for all further experiments.

### 3.4. Influence of the sample mass

The influence of the sample mass, inserted into the graphite tube, on the  $A_{\text{int}}$  values of Cd, Cu and Cr was also investigated. This study was carried out under the optimized conditions of each element. For Cd a linear correlation ( $A_{\text{int}} = 0.407m + 0.0141$  (mg);  $R = 0.992$ ) of  $A_{\text{int}}$  values and sample mass between 0.009

and 0.8 mg was observed. For Cr, the correlation between  $A_{\text{int}}$  and the sample mass was linear ( $A_{\text{int}} = 0.410m - 0.0214$  (mg);  $R = 0.990$ ) in the mass range from 0.05 to 1 mg and for Cu, there was a linear correlation ( $A_{\text{int}} = 1.83m + 0.0425$  (mg);  $R = 0.993$ ) between  $A_{\text{int}}$  values and the sample mass between 0.014 and 0.2 mg. This means that for all elements linear correlations have been found over a mass range of at least one order of magnitude. Higher masses than those cited for each element should not be used, since there was a deviation from linearity.

### 3.5. Figures of merit

Calibration curves have been established for all analytes, as described in Section 2.3. To calculate the limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) ten measurements of the blank were carried out according to the “zero mass response” technique<sup>34</sup> for Cr and Cu; for Cd, the chemical modifier was used as the blank. The LOD and LOQ for each analyte were calculated as: three and ten times, respectively; the standard deviation of those ten measurements of the blank divided by the slope of the calibration curve. The characteristic mass ( $m_0$ ), is defined as the mass of the analyte corresponding to an integrated absorbance of 0.0044 s.<sup>35</sup> The results are listed in Table 2.

The characteristic masses found for Cd, Cr and Cu were in agreement with those reported in the literature, as well as the LOD values.<sup>30,31,33,36–38</sup> The LOD and LOQ of Cd and Cr are comfortably lower than the maximum levels established by legislation. The regulations of Mercosul<sup>39</sup> and the European Union<sup>40</sup> establish that the maximum limit of Cd allowed in species of the Solanaceae family is 50  $\mu\text{g kg}^{-1}$ . For Cr, the National Food Safety Standard Maximum Levels of Contaminants in Food, from USDA (United States Department of Agriculture – Foreign Agricultural Service) establishes a maximum level of 0.5  $\mu\text{g g}^{-1}$  for vegetables.<sup>41</sup> For Cu, there is no specific legislation but, the LOD and LOQ found in this work are much lower than the maximum level of Cu in pickles of 15  $\mu\text{g g}^{-1}$ , established by ANVISA (National Health Surveillance Agency – Brazil) – Resolution – CNNPA no. 13, July 15, 1977.<sup>42</sup>

The trueness of the methods was established analyzing different CRMs. The SRM NIST 1570a Spinach Leaves were used to establish the trueness of Cd and Cu methods and Virginia

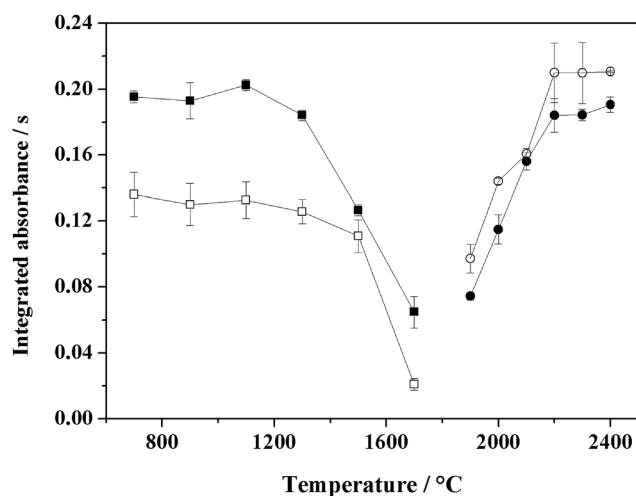


Fig. 4 Pyrolysis (■□) and atomization (●○) curves for Cu: (■●) 1.0 ng Cu in aqueous solution; (□○) integrated absorbance normalized for 0.05 mg and 0.1 mg of green bell pepper sample, respectively.  $T_{\text{at}}$ : 2300 °C and  $T_{\text{pyr}}$ : 1100 °C.

Table 2 Figures of merit for the determination of Cd, Cr and Cu in vegetables of the Solanaceae family by HR-CS SS-GF AAS and calibration with aqueous standard solutions

Parameters	Cd	Cr	Cu
Linear regression equation	$A_{\text{int}} = 0.0048 + 0.0088m$ (pg)	$A_{\text{int}} = 0.0075 + 1.4088m$ (ng)	$A_{\text{int}} = 0.0077 + 0.1652m$ (ng)
Correlation coefficient	0.9961	0.9973	0.9972
LOD <sup>a</sup>	0.78 ng $\text{g}^{-1}$	2.5 ng $\text{g}^{-1}$	0.15 $\mu\text{g g}^{-1}$
LOQ <sup>a</sup>	2.6 ng $\text{g}^{-1}$	8.3 ng $\text{g}^{-1}$	0.50 $\mu\text{g g}^{-1}$
$m_0$	0.42 pg	2.7 pg	19 pg

<sup>a</sup> Calculated for a sample mass of 0.8 mg, 1.0 mg and 0.2 mg for Cd, Cr and Cu, respectively.

Table 3 Determination of Cd, Cu and Cr in CRMs by HR-CS SS-GF AAS

Analyte	Certified reference material	Certified value	Found <sup>a</sup>
Cd	NIST 1570a	2.876 ± 0.058 (µg kg <sup>-1</sup> )	2.86 ± 0.09 (µg kg <sup>-1</sup> )
Cu	NIST 1570a	12.17 ± 1.13 (µg g <sup>-1</sup> )	12.2 ± 0.9 (µg g <sup>-1</sup> )
Cr	CTA-VTL-2	1.87 ± 0.16 (µg g <sup>-1</sup> )	1.80 ± 0.06 (µg g <sup>-1</sup> )

<sup>a</sup> Results are expressed as mean ± standard deviation ( $n = 5$ ).

Tobacco leaves CTA-VTL-2 was used for Cr, as the former one does not have a certified value for Cr. The CRM Spinach Leaves was chosen because it presents the same mineral composition as the analyzed vegetables and the tobacco leaves belong to the Solanaceae family. The results obtained with the methods were compared with the reference values, shown in Table 3, using the Student's  $t$ -test. The  $t_{\text{critical}}$  was 2.77 and the  $t_{\text{calculated}}$  was 2.20 for Cd, 1.13 for Cu and 2.60 for Cr, indicating that the found and certified values are in agreement at a 95% confidence level. This demonstrates that the proposed methods are providing accurate results and vegetables of the Solanaceae family can be directly analyzed without interference using calibration against aqueous standard solutions.

This possibility of using aqueous standard solutions for calibration is kind of symptomatic for the determination free of spectral and non-spectral interferences and is quite common for direct SS analysis, particularly when combined with HR-CS GF AAS.<sup>43,44</sup> The main contribution of HR-CS AAS in this case is an improved correction for spectral interferences,<sup>45,46</sup> including a direct line overlap, which cannot even be detected in the case of LS AAS.<sup>47</sup>

The time-resolved absorbance spectra of Cd, Cr and Cu in green bell pepper are shown in Fig. 5a–c. It can be observed that there is no spectral interference in these spectra. Moreover, it suggests that the developed methods might be applied in line source instruments with less sophisticated background correction systems.

### 3.6. Application

The proposed methods were applied for the determination of Cd, Cr and Cu in vegetables of the Solanaceae family, cultivated in conventional and organic farming systems (48 samples), as can be seen in Fig. 6–8. Individual results of the concentrations of three samples of each vegetable, obtained from different suppliers are shown in the ESI in Tables S1–S3.†

Fig. 6 presents the results for Cd in all the analyzed samples. In general, vegetables cultivated in a conventional way, presented higher Cd concentrations than those from organic farming. The highest Cd concentrations were found for eggplant cultivated in a conventional and organic manner. These values exceeded the limits established by Mercosul<sup>39</sup> and European Union<sup>40</sup> of 50 µg kg<sup>-1</sup>. All pepper samples also presented Cd values above the maximum limits. Physalis and red bell pepper presented the lowest concentrations of Cd.

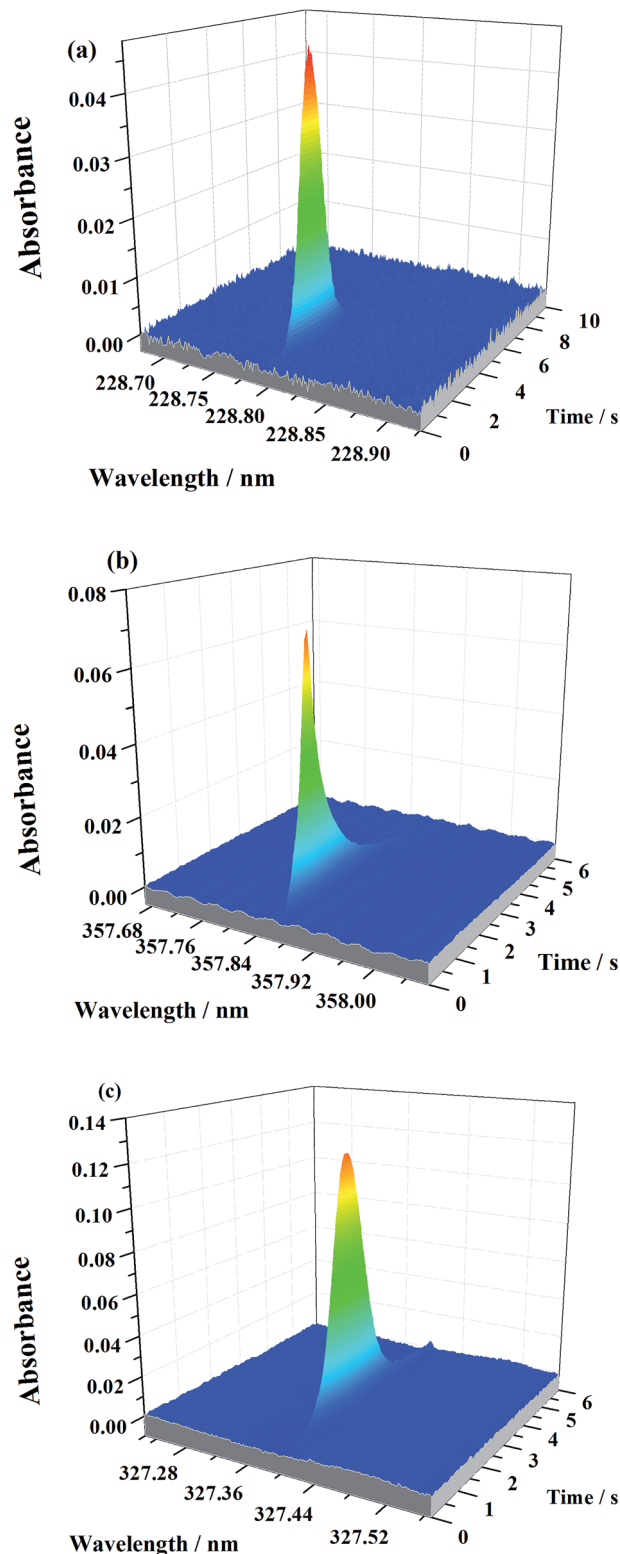


Fig. 5 Time-resolved absorbance spectrum in the vicinity of the (a) 228.802 nm analytical line for Cd; (b) 357.869 nm analytical line for Cr and (c) 327.396 nm analytical line for Cu.

The results for Cr are shown in Fig. 7; the results ranged from 0.063 µg g<sup>-1</sup> for organic tomato up to 1.1 µg g<sup>-1</sup> for conventionally grown physalis, varying between the samples of



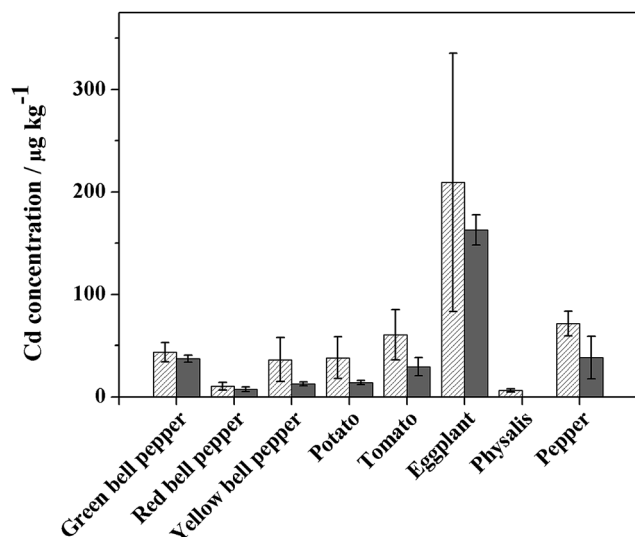


Fig. 6 Average cadmium concentration found in vegetables of the Solanaceae family grown in three different locations each, using HR-CS SS-GF AAS and comparing conventional (hatched bar) and organic (gray bar) farming.

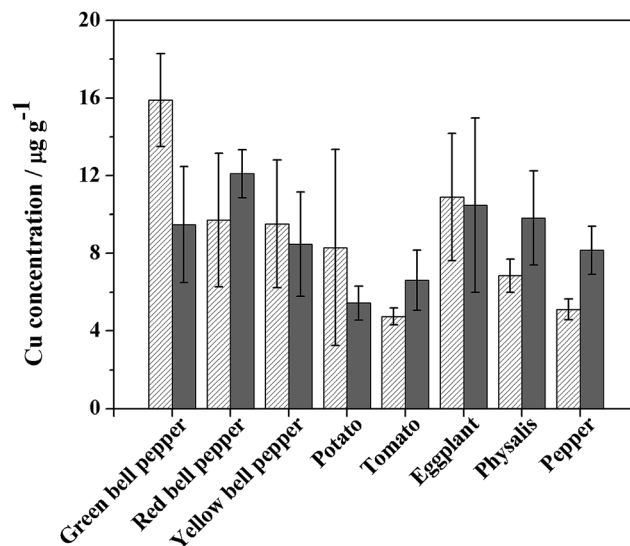


Fig. 8 Average copper concentration found in vegetables of the Solanaceae family grown in three different locations each, using HR-CS SS-GF AAS and comparing conventional (hatched bar) and organic (gray bar) farming.

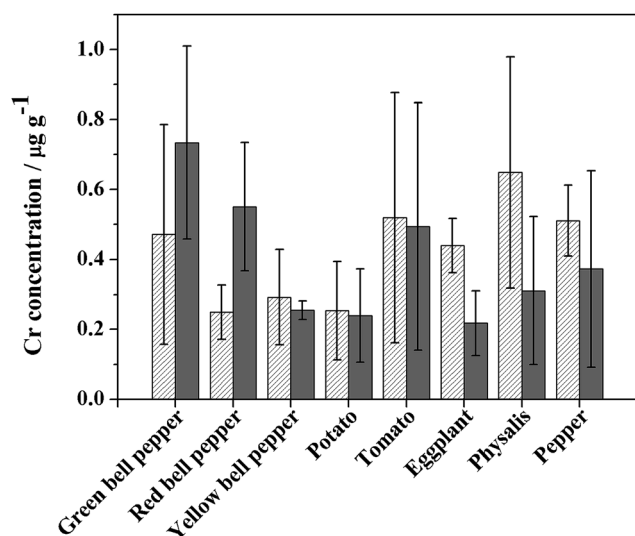


Fig. 7 Average chromium concentration found in vegetables of the Solanaceae family grown in three different locations each, using HR-CS SS-GF AAS and comparing conventional (hatched bar) and organic (gray bar) farming.

the same plant and between those obtained from conventional and organic farming. This could suggest that the Cr concentration is more affected by the plant's ability to accumulate Cr than by the cultivation manner.<sup>48,49</sup> As shown in Fig. 7, various vegetables presented Cr concentrations above the limits established by USDA.<sup>41</sup>

Cu was the analyte that was present in the highest concentration in the analyzed samples: 4.52–18.4  $\mu\text{g g}^{-1}$  (Fig. 8). Because of these high concentrations, it was necessary to decrease the sensitivity of the method, and for this purpose a secondary line and only the center pixel were used to evaluate

the signal. Moreover, the minimum gas flow rate was used in the atomization stage. Taking into account ANVISA legislation<sup>42</sup> which stipulates that the maximum level of Cu in pickles should be 15  $\mu\text{g g}^{-1}$ ; only the green bell pepper, cultivated in a conventional manner, exceeded this limit.

Analyzing the data, it is not possible to affirm that the cultivation system significantly affects the concentration of Cd, Cr and Cu in vegetables of the Solanaceae family. In the case of Cd, as mentioned, organic vegetables, on average, did not exceed the conventional vegetables. However, for Cr and Cu, a considerable oscillation in their concentrations was observed, and it was not possible to detect any kind of tendency. In the case of Cu, this may be explained because certain compounds containing Cu, can be applied in organic cultures.<sup>50</sup> Nevertheless, similar results were observed by other authors. Karavoltos *et al.*<sup>10</sup> studied the Cd and Pb contents in conventional, certified and uncertified organic foodstuffs from the Greek market. The results demonstrated that for the majority of the products, Pb and Cd concentrations were lower in organic products. The authors mention that the metal content in the foodstuffs may be influenced by a variety of environmental factors, related or not to agricultural practices, such as metal pollution in the soil, atmosphere or even from water used for irrigation. No significant differences in Cd and Pb levels in lettuces were observed by Araújo *et al.*,<sup>11</sup> who studied the mineral composition of tomatoes, peppers and lettuce grown in organic and conventional systems. Organic peppers and lettuce presented higher concentrations of Cr than the conventional ones. For tomatoes, both conventional and organic crops presented high levels of Cr and Cu. Ilić *et al.*<sup>12</sup> found that the growing method did not influence the concentration of Cd, Cr and Co in all cultivars analyzed. Barański *et al.*,<sup>13</sup> who analyzed the data from 343 articles, found some evidence that Cd concentrations are lower in organically grown crops.

In general, this study is consistent with the results obtained in the previously mentioned studies, having a tendency to present lower levels of Cd in organically grown vegetables and large variations for Cr and Cu between the organic and conventional systems. A wide variation in concentrations of all analytes in the samples from the same species was also verified. It is important to highlight that these samples were obtained from different farms and may be subjected to different treatments. This emphasizes that this kind of analysis can be influenced by several factors, such as the soil background, the different ability of plants to absorb these metals, proximity to contaminated sites, water and application of synthetic and organic fertilizers.

## 4. Conclusions

The three methods are fast, simple, sensitive and applicable to routine analyses. It was demonstrated that the direct solid sample analysis of vegetables using calibration against aqueous standard solutions is viable. In this study, it can be seen that the highest concentrations of Cd were found in eggplants, cultivated in a conventional and organic manner. On an average, related to the Cd concentration, no organic vegetables surpassed conventional ones. For Cr, organic green pepper and conventional physalis showed the highest values and for Cu, green, yellow and red bell pepper, eggplant and physalis presented the highest values, ranging between conventional and organic vegetables. The concentrations probably vary because of the cultivation form, such as application of fertilizers and pesticides, proximity to polluted areas, deposition by airborne particles and the capacity of plants to absorb metals naturally present in the soil. In the case of organic farming, the variations might be due to the previous soil treatment before the conversion to an organic system, the use of contaminated water or application of wrong organic practices; for these reasons organically grown vegetables also had high concentrations of metals.

## Acknowledgements

The authors are grateful to the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for their financial support. B. W. (grant no. CNPq 305085/2011-5), M. G. R. V. (grant no. CNPq 305679/2015-5) and M. P. M. S. (grant no. CAPES 1551743).

## References

- 1 W. T. Kemper, Vegetables families, <http://www.gardeninghelp.org/>, accessed, October 2015.
- 2 M. Butnariu and A. Butu, Chemical Composition of Vegetables and Their Products, *Handbook of Food Chemistry*, Berlin, 2015, 651–684.
- 3 Brazil, Decreto no. 6.323, de 27 de dezembro de 2007, Regulamenta a Lei no. 10.831, de 23 de dezembro de 2003,

que dispõe sobre agricultura orgânica, e dá outras providências, 2007.

- 4 K. F. Isherwood, *Mineral fertilizer Use and Environment, International Fertilizer Industry Association*, United Nations Environment Programme, Paris, 2000, ISBN: 2-9506299-3-8.
- 5 Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, O mercado de hortaliças no Brasil, Sebrae Nacional, <http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-mercado-de-hortalicas-no-brasil,92e8634e2ca62410VgnVCM100000b272010aRCRD>, 2015, accessed, April 2016.
- 6 Ministério da agricultura, Pecuária e Abastecimento, Mercado brasileiro de orgânicos deve movimentar R\$ 2,5 bilhões em 2016, Assessoria de comunicação do MAPA, <http://www.agricultura.gov.br/comunicacao/noticias/2015/09/mercado-brasileiro-de-organicos-deve-movimentar-rs-2-bi-em-2016>, accessed, April 2016.
- 7 A. R. Borges, E. M. Becker, C. Lequeux, M. G. R. Vale, L. C. S. Ferreira and B. Welz, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2011, **66**, 529–535.
- 8 A. R. Borges, E. M. Becker, M. B. Dessuy, M. G. R. Vale and B. Welz, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2014, **92**, 1–8.
- 9 A. R. Borges, L. L. François, E. M. Becker, M. G. R. Vale and B. Welz, *Microchem. J.*, 2015, **119**, 169–175.
- 10 S. Karavoltzos, A. Sakellari, M. Dassenakis and M. Scoullou, *Food Chem.*, 2008, **106**, 843–851.
- 11 D. F. S. Araújo, M. A. S. Vasconcelos, S. A. C. Andrade and L. A. Sarubboc, *Food Control*, 2013, **44**, 242–248.
- 12 Z. S. Ilić, N. Kapoulas, L. Šunić, D. Beković and N. Mirecki, *Pol. J. Environ. Stud.*, 2014, **23**, 2027–2032.
- 13 M. Barański, D. Srednicka-Tober, N. Volakakis, C. Seal, R. Sanderson, G. B. Stewart, C. Benbrook, B. Biavati, E. Markellou, C. Giotis, J. Gromadzka-Ostrowska, E. Rembiałkowska, K. Skwarło-Sońta, R. Tahvonon, D. Janovska, U. Niggli, P. Nicot and C. Leifert, *Br. J. Nutr.*, 2014, **112**, 794–811.
- 14 C. Chen, Y. Qian, Q. Chen and C. Li, *J. Food Sci.*, 2011, **76**, 181–188.
- 15 M. M. F. Santos, R. P. Matos, H. A. Leite and P. G. Gervasio, *Exatas Online*, 2012, **3**, 12–20.
- 16 G. J. Norton, C. M. Deacon, A. Mestrot, J. Feldmann, P. Jenkins, C. Baskaran and A. A. Meharg, *Sci. Total Environ.*, 2015, **553**, 520–527.
- 17 A. T. Duarte, M. B. Dessuy, M. M. Silva, M. G. R. Vale and B. Welz, *Microchem. J.*, 2010, **96**, 102–107.
- 18 K. Bichinho, G. P. Pires, F. C. Stedile, J. H. Z. dos Santos and C. R. Wolf, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2005, **60**, 599–604.
- 19 M. G. R. Vale, N. Oleszczuk and W. L. dos Santos, *Appl. Spectrosc. Rev.*, 2006, **41**, 377–400.
- 20 S. L. C. Ferreira, M. Miró, E. G. P. da Silva, G. D. Matos, P. S. dos Reis, G. C. Brandão, W. N. L. dos Santos, A. T. Duarte, M. G. R. Vale and R. G. O. Araujo, *Appl. Spectrosc. Rev.*, 2010, **45**, 44–62.
- 21 B. Welz, M. G. R. Vale, D. L. G. Borges and U. Heitmann, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2007, **389**, 2085–2095.
- 22 M. G. R. Vale, N. Oleszczuk and W. N. L. dos Santos, *Appl. Spectrosc. Rev.*, 2006, **41**, 377–400.

- 23 M. Resano, M. Aramendíab and M. A. Belarra, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2014, **29**, 2229–2250.
- 24 B. Welz, H. Becker-Ross, S. Florek and U. Heitmann, *High-resolution Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry*, Wiley-VCH, Weinheim, New York, 2005.
- 25 M. Resano and E. García-Ruiz, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2011, **399**, 323–330.
- 26 A. Virgilio, J. F. Rêgo, A. I. Barros and J. A. Gomes Neto, *J. Braz. Chem. Soc.*, 2015, **26**, 1988–1993.
- 27 G. Schlemmer and B. Welz, *Spectrochim. Acta, Part B*, 1986, **41**, 1157–1165.
- 28 A. de Jesus, A. V. Zmozinski, I. C. F. Damin, M. M. Silva and M. G. R. Vale, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2012, **71–72**, 86–91.
- 29 F. A. da Silva, D. L. G. Borges, G. F. Lepri, B. Welz, J. A. Curtius and U. Heitmann, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2005, **382**, 1835–1841.
- 30 A. T. Duarte, M. B. Dessuy, M. G. R. Vale, B. Welz and J. B. de Andrade, *Talanta*, 2013, **115**, 55–60.
- 31 A. V. Zmozinski, T. Pretto, A. R. Borges and M. G. R. Vale, *Anal. Methods*, 2015, **7**, 3735–3741.
- 32 A. Virgilio, J. A. Nóbrega, J. F. Rêgo and J. A. G. Neto, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2012, **78**, 58–61.
- 33 S. O. Souza, L. L. François, A. R. Borges, M. G. R. Vale and R. G. O. Araujo, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2015, **114**, 58–64.
- 34 U. Kurfürst, in *Solid Sample Analysis*, ed. U. Kurfürst, Springer, Berlin, 1998, p. 115.
- 35 B. Welz and M. Sperling, *Atomic Absorption Spectrometry*, Wiley-VCH, Weinheim, 3rd edn, 1999.
- 36 P. Török and M. Zemberyová, *Food Chem.*, 2012, **132**, 554–560.
- 37 L. M. G. dos Santos, B. Welz, R. G. O. Araujo, S. D. C. Jacob, M. G. R. Vale, A. Martens, I. B. G. Martens and H. Becker-Ross, *J. Agric. Food Chem.*, 2009, **57**, 10089–10094.
- 38 S. O. Souza, L. L. François, A. R. Borges, M. G. R. Vale and R. G. O. Araujo, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2015, **114**, 58–64.
- 39 Resolução - RDC No. - 42, de 29 de agosto de 2013, Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos, Diário Oficial da União, 2013, no. 168.
- 40 European Union regulation no. 1881/2006 December 19, 2006, Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs, OJ L 364, 5.
- 41 United States Department of Agriculture – Foreign Agricultural Service National Food Safety Standard Maximum Levels of Contaminants in Food 2010, Global Agricultural Information Network, 2010, <http://www.franceagrimer.fr/content/download/34562/314748/file/INT%20ENG%20-%20GB%202762-2012%20-%20Niveaux%20de%20polluants%20maximum%20autoris%C3%A9s%20dans%20les%20produits%20alimentaires.pdf>, accessed, January 2016.
- 42 Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos, *Resolve estabelecer características mínimas de identidade e qualidade para as hortaliças em conserva obrigatoriamente submetidas a tratamento térmico*, Resolução – CNNPA no. 13, de 15 de julho de, 1977.
- 43 M. G. R. Vale, N. Oleszczuk and W. N. L. dos Santos, *Appl. Spectrosc. Rev.*, 2006, **41**, 377–400.
- 44 B. Welz, M. G. R. Vale, D. L. G. Borges and U. Heitmann, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2007, **389**, 2085–2095.
- 45 R. G. O. Araujo, B. Welz, F. Vignola and H. Becker-Ross, *Talanta*, 2009, **80**, 846–852.
- 46 A. R. Borges, E. M. Becker, L. L. François, A. De Jesus, M. G. R. Vale, B. Welz, M. B. Dessuy and J. B. de Andrade, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2014, **101**, 213–219.
- 47 W. Boschetti, A. R. Borges, A. T. Duarte, M. B. Dessuy, M. G. R. Vale, J. B. de Andrade and B. Welz, *Anal. Methods*, 2014, **6**, 4247–4256.
- 48 J. R. Peralta-Videa, M. L. Lopez, M. Narayan, G. Saupe and J. Gardea-Torresdey, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2009, **41**, 1665–1677.
- 49 F. X. Han, B. B. M. Sridhar, D. L. Monts and Y. Su, *New Phytol.*, 2004, **162**, 489–499.
- 50 Brasil, Instrução Normativa no. 46, de 6 de outubro de 2011, Estabelecer o Regulamento Técnico para os Sistemas Orgânicos de Produção Animal e Vegetal, bem como as listas de Substâncias Permitidas para uso nos Sistemas Orgânicos de Produção Animal e Vegetal, na forma desta Instrução Normativa e dos seus Anexos I a VII, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 2011.

**Determination of cadmium, chromium and copper in vegetables of *Solanaceae* family using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis**

**Electronic Supplementary Information (ESI)**

Tables S.1, S.2 and S.3 show the concentrations of Cd, Cr and Cu of three samples of each vegetable (conventional and organic), which were obtained from different suppliers.

Table S.1) Determination of Cd in vegetables of the *Solanaceae* family, cultivated in conventional and organic system, by HR-CS SS-GF AAS using 5 µg Pd + 3 µg Mg as chemical modifier.

Vegetable	Conventional / µg kg <sup>-1</sup> *			Organic / µg kg <sup>-1</sup> *		
	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Green Bell pepper	37 ± 4	38 ± 3	55 ± 2	35 ± 3	38 ± 3	39 ± 3
Yellow Bell pepper	11 ± 1	40 ± 1	58 ± 6	11 ± 1	12 ± 1	15 ± 1
Red Bell pepper	6.1 ± 0.6	12 ± 1	13 ± 2	5.0 ± 0.6	7.5 ± 0.5	9.5 ± 1
Tomato	30 ± 3	72 ± 6	78 ± 4	19 ± 1	32 ± 1	38 ± 4
Potato	14 ± 2	45 ± 3	55 ± 5	12 ± 1	14 ± 1	16 ± 2
Eggplant	54 ± 2	273 ± 31	301 ± 33	156 ± 9	159 ± 15	174 ± 10
Physalis	5.2 ± 0.6	5.3 ± 0.6	8.4 ± 0.8	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Red pepper	63 ± 6	68 ± 4	84 ± 9	12 ± 1	51 ± 2	52 ± 2

LOQ = 2.6 ng g<sup>-1</sup>

(\*)Results are expressed as mean ± standard deviation (n=5)

Table S.2. Determination of Cr in vegetables of the *Solanaceae* family, cultivated in conventional and organic system, by HR-CS SS-GF AAS.

Vegetable	Conventional / $\mu\text{g g}^{-1*}$			Organic / $\mu\text{g g}^{-1*}$		
	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Green Bell Pepper	$0.23 \pm 0.01$	$0.33 \pm 0.03$	$0.88 \pm 0.09$	$0.44 \pm 0.03$	$0.71 \pm 0.03$	$1.0 \pm 0.1$
Yellow Bell Pepper	$0.20 \pm 0.02$	$0.21 \pm 0.01$	$0.46 \pm 0.03$	$0.23 \pm 0.02$	$0.26 \pm 0.02$	$0.27 \pm 0.02$
Red Bell Pepper	$0.18 \pm 0.01$	$0.23 \pm 0.02$	$0.34 \pm 0.01$	$0.33 \pm 0.03$	$0.65 \pm 0.07$	$0.67 \pm 0.07$
Tomato	$0.12 \pm 0.01$	$0.57 \pm 0.03$	$0.89 \pm 0.08$	$0.063 \pm 0.005$	$0.61 \pm 0.05$	$0.79 \pm 0.07$
Potato	$0.10 \pm 0.01$	$0.26 \pm 0.01$	$0.4 \pm 0.05$	$0.09 \pm 0.01$	$0.24 \pm 0.03$	$0.39 \pm 0.02$
Eggplant	$0.36 \pm 0.03$	$0.46 \pm 0.05$	$0.49 \pm 0.04$	$0.16 \pm 0.02$	$0.17 \pm 0.01$	$0.33 \pm 0.04$
Physalis	$0.40 \pm 0.05$	$0.49 \pm 0.06$	$1.1 \pm 0.1$	$0.15 \pm 0.02$	$0.20 \pm 0.02$	$0.57 \pm 0.05$
Red pepper	$0.42 \pm 0.04$	$0.49 \pm 0.06$	$0.61 \pm 0.06$	$0.14 \pm 0.02$	$0.26 \pm 0.02$	$0.71 \pm 0.03$

(\*)Results are expressed as mean  $\pm$  standard deviation (n=5)

Table S.3. Determination of Cu in vegetables of the *Solanaceae* family, cultivated in conventional and organic system, by HR-CS SS-GF AAS.

Vegetable	Conventional / $\mu\text{g g}^{-1}$ *			Organic / $\mu\text{g g}^{-1}$ *		
	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 1	Sample 2	Sample 3o
Green bell Pepper	14 $\pm$ 1	15 $\pm$ 1	18 $\pm$ 2	7.1 $\pm$ 0.6	8.0 $\pm$ 0.6	13 $\pm$ 1
Yellow Bell Pepper	6.4 $\pm$ 0.5	8.9 $\pm$ 0.7	13 $\pm$ 1	6.2 $\pm$ 0.5	7.5 $\pm$ 0.7	11 $\pm$ 1
Red Bell Pepper	6.9 $\pm$ 0.6	8.3 $\pm$ 0.7	14 $\pm$ 1	11 $\pm$ 1	12 $\pm$ 1	13 $\pm$ 1
Tomato	4.5 $\pm$ 0.4	4.7 $\pm$ 0.4	4.9 $\pm$ 0.3	5.3 $\pm$ 0.5	6.1 $\pm$ 0.6	8.4 $\pm$ 0.6
Potato	4.9 $\pm$ 0.2	5.1 $\pm$ 0.5	5.2 $\pm$ 0.5	4.8 $\pm$ 0.4	5.4 $\pm$ 0.5	6.2 $\pm$ 0.6
Eggplant	6.9 $\pm$ 0.6	12 $\pm$ 1	13 $\pm$ 1	5.2 $\pm$ 0.5	12 $\pm$ 1	14 $\pm$ 1
Physalis	6.0 $\pm$ 0.6	6.9 $\pm$ 0.6	7.4 $\pm$ 0.7	7.0 $\pm$ 0.6	11 $\pm$ 1	11 $\pm$ 1
Red pepper	4.7 $\pm$ 0.4	5.2 $\pm$ 0.4	5.3 $\pm$ 0.5	6.7 $\pm$ 0.7	7.4 $\pm$ 0.7	8.8 $\pm$ 0.8

(\*)Results are expressed as mean  $\pm$  standard deviation (n=5)

## 5.2 Artigo 2

**Título: Simultaneous and direct determination of nickel and iron in vegetables of Solanaceae family by high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry.** Publicado na revista *Microchemical Journal*, volume 133, páginas 162-167, em 2017.

Artigo aceito para publicação pela revista *Microchemical Journal*.

### **Destaques**

- Neste trabalho foi proposto um método rápido e confiável para a determinação simultânea de Ni e Fe usando HR-CS GF AAS.
- Foram analisados vegetais pertencentes à família Solanaceae cultivados de maneira orgânica e convencional.
- A análise direta de sólidos foi empregada por propiciar determinações rápidas e com menores possibilidades de contaminações.
- Uma interferência molecular devido a molécula de SiO foi removida utilizando algoritmo de mínimos quadrados.



# Simultaneous determination of nickel and iron in vegetables of *Solanaceae* family using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis



Marianna Pozzatti <sup>a</sup>, Flávio V. Nakadi <sup>b</sup>, Maria Goreti R. Vale <sup>b,c,\*</sup>, Bernhard Welz <sup>c,d</sup>

<sup>a</sup> Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

<sup>b</sup> Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

<sup>c</sup> Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do CNPq-INCT de Energia e Ambiente, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brazil

<sup>d</sup> Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brazil

## ARTICLE INFO

### Article history:

Received 7 March 2017

Accepted 14 March 2017

Available online 18 March 2017

### Keywords:

Vegetables

*Solanaceae* family

Simultaneous determination of nickel and iron

HR-CS SS-GF AAS

Direct solid sample analysis

## ABSTRACT

A method has been developed for the simultaneous determination of Ni and Fe in vegetables of the *Solanaceae* family (bell pepper, tomato, potato, eggplant, physalis, and red pepper) using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis (HR-CS SS-GF AAS). The vegetables were cultivated using both conventional and “organic” farming. The samples were lyophilized, milled, and the particle size was controlled using a 200  $\mu\text{m}$  polyester sieve. The primary absorption line for Ni at 232.003 nm and a secondary line for Fe at 232.036 nm were used throughout the study. Pyrolysis and atomization temperatures for both analytes were 1400 °C and 2500 °C, respectively. The molecular spectrum of SiO appeared during atomization, and it was corrected using a least-squares algorithm. The calibration was carried out with aqueous standard solutions. The characteristic masses for Ni and Fe were 95  $\mu\text{g}$  and 340  $\mu\text{g}$ , respectively. The LODs of Ni and Fe were 0.02  $\mu\text{g g}^{-1}$  and 2  $\mu\text{g g}^{-1}$ , and the LOQs were 0.06  $\mu\text{g g}^{-1}$  and 6  $\mu\text{g g}^{-1}$ , respectively. The accuracy of the method was confirmed by analyzing a certified reference material of tomato leaves (SRM NIST 1573a). The concentrations of Fe were different for conventional and organic farming, whereas only one group of organically grown vegetables had higher Ni concentrations than the conventionally grown.

© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

## 1. Introduction

Vegetables belonging to the *Solanaceae* family have great importance because they account with approximately 90 genera and 3000–4000 species. These vegetables are widely used by humans as ornamental plants, drugs and mainly for food, highlighting potato, tomato, eggplant, bell pepper, peppers and physalis, among others [1]. Vegetables are appreciated because they contribute with many nutrients to the human diet, such as macrominerals K, Mg, Na, P, and also contain trace minerals, such as Cu, Cr, Fe, Mn, Ni, Zn [2,3].

Potentially toxic elements can enter the food chain from many sources: application of pesticides, fertilizers, deposition from the air, contaminated water, and vicinity of roads or industries [4–8]. Due to the great economic importance of conventional vegetable production in Brazil and the growing demand for organically grown products, conducting studies to verify the concentration of metals in vegetables has increased in importance [9,10].

Iron is the fourth most abundant element on the earth crust, and it is considered an essential element for humans. It acts as an oxygen transporter and in the DNA synthesis. However, some species of Fe can be toxic, forming activated oxygen species which can promote lipid, protein or DNA molecules oxidation [11].

Nickel is used in metal alloys, pigments, plating, batteries, and as catalyst. It is released to the environment during nickel mining, by trash incinerators or burning oil. First, the element interacts to small particles of dust that come in contact with water or soil by deposition, where it strongly attaches to particles containing Fe or Mn. Further, it is absorbed in the food chain through vegetables, which are the major source of exposure to Ni. This exposure can cause allergic reactions, and, in higher concentrations, it may cause stomach ache or adverse effects in blood and kidneys [12].

Several techniques might be used for elemental determination in vegetables, such as inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) [13,14], ICP mass spectrometry (ICP-MS) [15], flame atomic absorption spectrometry (F AAS) [16–21], graphite furnace AAS (GF AAS) [22–24], and hydride generation atomic fluorescence spectrometry (HG AFS) [23]. The methods based on these techniques [13–23] usually involve previous sample digestion and the use

\* Corresponding author at: Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

E-mail address: [mgrvale@ufrgs.br](mailto:mgrvale@ufrgs.br) (M.G.R. Vale).



of high purity reagents. The sample preparation requires time, increases cost, is more susceptible to contamination of samples, and dilutes the analyte, which might be a challenge for trace element determination [25,26].

GF AAS is quite attractive because it determines low levels of metallic elements in a variety of materials; it has well-defined temperature steps, providing elimination of interferers; and enables longer residence times of the atoms in the atomizer, improving sensitivity [27]. GF AAS makes possible using direct solid sample analysis (SS-GF AAS), which works with reduced sample manipulation and a minimum of reagents. These features provide less risk of contamination, higher analytical frequency, reduce waste generation, and further improve sensitivity [28,29].

High-resolution continuum source AAS (HR-CS AAS) has brought great advantages for AAS due to a high-pressure xenon short-arc lamp; a high-resolution double monochromator, consisting of a prism and an echelle grating monochromator; and a linear charge-coupled device (CCD) array detector. The instrument operates with 588 independent detectors, of which 200 are for analytical purposes. It visualizes the spectral environment of the analytical line, approximately  $\pm 100$  pm in the UV and  $\pm 250$  pm in the visible region, providing more information than conventional instruments. Moreover, HR-CS AAS effectively corrects for interferences due to the absorption of diatomic molecules, subtracting a reference spectrum using a least-squares algorithm [27,30].

Another noteworthy feature of HR-CS AAS is the possibility of simultaneous determination of more than one analyte if their absorption lines are within the spectral window reaching the detector. The sensitivity should be adequate for the concentration of the analytes in the sample and they must have a similar thermal behavior, allowing to establish compromise conditions for the pyrolysis and atomization temperatures [24,31,32].

Some studies report the simultaneous determination of Ni and Fe by HR-CS AAS and direct solid sample analysis. Gómez-Nieto et al. [24] analyzed pine samples (*Pinus sylvestris*) and epiphytic lichen specimen, and Soares et al. [33] studied their concentration in fluoropolymers. However, there are no studies in the literature for the simultaneous determination of Ni and Fe in vegetables using direct solid sample analysis and high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry (HR-CS SS-GF AAS). Based on this, the purpose of this work has been the development of an easy and fast method, applicable for routine analysis, for the simultaneous determination of Ni and Fe in vegetables of *Solanaceae* family using HR-CS SS-GF AAS.

## 2. Experimental

### 2.1. Instrumentation

The measurements were carried out using a high-resolution continuum source atomic absorption spectrometer model contra 700 (Analytik Jena AG, Jena, Germany), which is equipped with a high-intensity xenon short-arc lamp operating in a hot-spot mode as a continuum radiation source, a high-resolution double monochromator and a CCD array detector. The spectrometer is equipped with a transversely heated graphite tube atomizer and the platforms were introduced into the graphite tube using a pair of pre-adjusted tweezers which are part of the manual solid sampling accessory SSA 6 (Analytik Jena AG).

The wavelengths at 232.003 nm for Ni (100% relative sensitivity) and 232.036 nm for Fe (1.4% relative sensitivity) were used for simultaneous determination. Atomic absorption was measured using three pixels ( $CP \pm 1$ ), where the central pixel corresponds to the peak maximum for each analyte. All experiments were carried out with solid sampling (SS) graphite tubes (Analytik Jena, part number: 407-A81.303) and SS graphite platforms (Analytik Jena, part number: 407-152.023), both pyrolytically coated. An M2P microbalance (Sartorius, Göttingen, Germany) was used for weighing the samples directly onto the SS

platforms. After each measurement, the integrated absorbance was normalized to a sample mass of 0.1 mg. The aqueous standard solutions were injected manually onto the platform using a micropipette. Argon 99.996% (White Martins, São Paulo, Brazil) was used as purge and protective gas during all temperature steps, except the atomization. The graphite furnace heating program for the simultaneous determination of Ni and Fe is shown in Table 1.

### 2.2. Reagents and solutions

Analytical grade reagents were used in all studies. Deionized water with a specific resistivity of 18 M $\Omega$  cm from a Milli-Q water purification system (Millipore, Bedford, MA, USA) was used for the preparation of standard solutions. Nitric acid (Merck, Darmstadt, Germany), used to prepare the aqueous calibration solutions, was previously purified in a quartz sub-boiling still (Kürner Analysentechnik, Rosenheim, Germany). The Ni and Fe standard solutions were prepared by dilutions of stock solutions of 1000 mg L<sup>-1</sup> for both analytes (Specsol, Brazil) with addition of 0.014 mol L<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub>.

### 2.3. Samples and certified reference material

The conventionally cultivated vegetables (red, yellow and green bell pepper, red pepper, physalis, potato, tomato and eggplant) were obtained from local markets and the organically grown vegetables from local farms (total: 48 samples). Three samples from three different places were collected for each type of vegetable.

The samples were washed with water, lyophilized for 24 h in a freeze dryer Model ModulyonD (Thermo Electron Corporation, USA), ground using a micromill A-11 Basic (IKA-Werke, Germany), and sieved to <200  $\mu$ m using a polyester sieve. Some vegetables (physalis, bell peppers and pepper) required an extra step. After the grinding step, the samples were placed in an oven at 60 °C for 1 h and were ground in an agate mill in order to decrease the particle size to <200  $\mu$ m. These samples could not be ground properly, probably due to the presence of resins on their surface.

The certified reference material (CRM) SRM NIST 1573a Tomato leaves (National Institute of Standards and Technology, NIST, Gaithersburg, USA) was used to verify the accuracy of the method.

## 3. Results and discussion

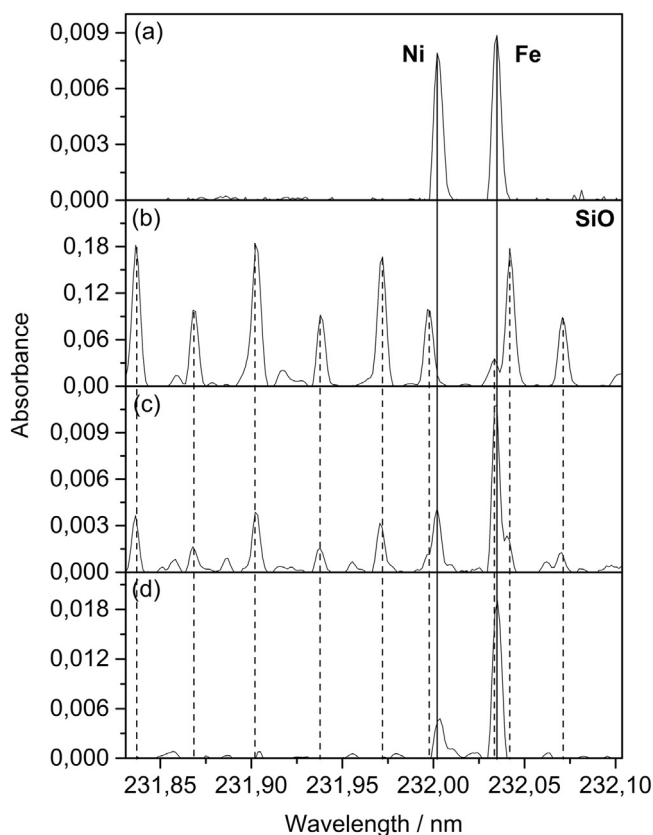
### 3.1. Correction for spectral interferences

A spectral interference of the SiO molecule on the determination of iron and nickel in the investigated spectral range was reported by Gómez-Nieto et al. [24] and also found in this work, as shown in Fig. 1. There is a weak line of the SiO spectrum that overlaps directly with the 232.036 nm Fe line and another SiO line at 231.998 that partially overlaps with the 232.003 nm Ni line.

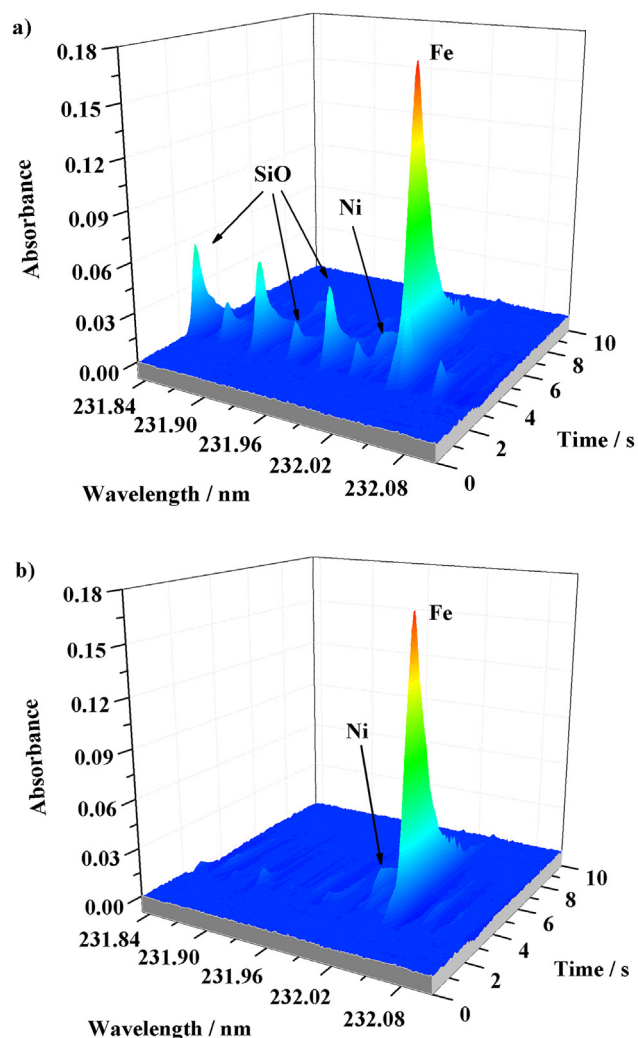
The spectrum of the SiO molecule is shown in Fig. 2a for the SRM NIST 1573a Tomato leaves. A reference spectrum of SiO was therefore established using pure SiO for chromatography as a solid sample, and subtracting this reference spectrum from the sample spectrum using least-squares background correction (LSBC). The background signal

**Table 1**  
Graphite furnace temperature program for the simultaneous determination of Ni and Fe in vegetables of the *Solanaceae* family by HR-CS SS-GF AAS.

Step	Temperature/°C	Ramp/°C s <sup>-1</sup>	Hold time/s	Gas flow rate/L min <sup>-1</sup>
Drying	90	3	10	2.0
Drying	110	5	10	2.0
Pyrolysis	1400	300	5	2.0
Atomization	2500	3000	8	0
Cleaning	2650	1000	8	2.0



**Fig. 1.** Wavelength resolved time-integrated absorbance spectrum in the vicinity of the Ni resonance line at 232.003 nm for: a) Ni (0.5 ng) and Fe (13 ng) in a standard solution; b) reference spectrum of SiO obtained for 0.3 mg of pure silica; c) spectrum of SRM NIST 1573a Tomato leaves sample with the interference of SiO molecule; d) spectrum of SRM NIST 1573a Tomato leaves sample after subtraction of the reference spectrum using least-squares background correction.  $T_{\text{pir}}$  1400 °C/ $T_{\text{at}}$  2500 °C.



**Fig. 2.** Time and wavelength resolved absorbance spectra of SRM NIST 1573a Tomato leaves sample in the vicinity of the nickel analytical line at 232.003 nm: (a) without LSBC evidencing the SiO molecule structured band as interference and (b) the same spectrum applying LSBC.

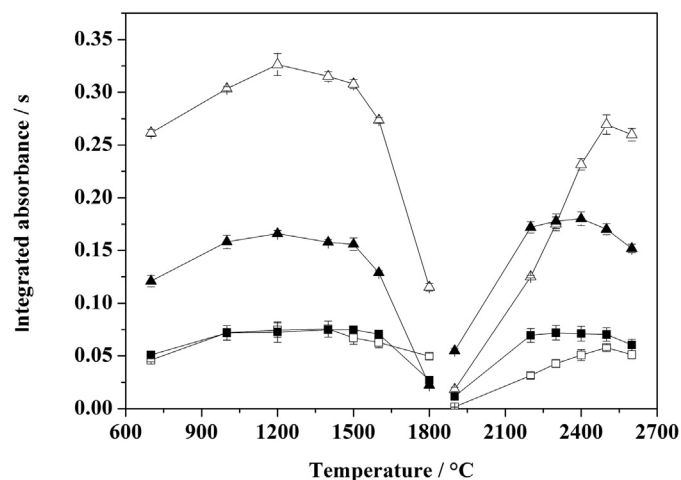
disappeared completely after this correction, as shown in Fig. 2b. The effect of this spectral interference on the result of the measurements was not investigated in this work, but the correction using LSBC was used throughout this work.

### 3.2. Optimization of the temperature program

It is necessary to establish a compromise temperature program for both elements to enable simultaneous determination. The pyrolysis temperature depends on the most volatile analyte, and the atomization temperature depends on the least volatile analyte; in both cases, there must be no analyte losses during these stages [34].

First of all, the application of chemical modifiers in solution, pipetted over the samples, was investigated. The chemical modifiers Pd, Pd/Mg, and  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  were evaluated; however, they did not improve significantly the absorbance values or the peak profiles. Besides,  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  generated a new fine-structured molecular absorption spectrum, which was due to the PO diatomic molecule. For this reason, the analysis was carried out without chemical modifiers, lowering costs and total analysis time.

The pyrolysis and atomization curves for Ni and Fe are shown in Fig. 3. The pyrolysis curves are very similar for aqueous standard solutions and samples for both elements. The pyrolysis temperatures with the highest signals were between 1200 °C and 1400 °C for the aqueous standard solutions, but at 1200 °C the relative standard deviation (RSD) was high, mainly for Fe. A pyrolysis temperature of 1400 °C gave the best conditions for both analytes in the samples. Consequently, 1400 °C was chosen for all further studies.



**Fig. 3.** Pyrolysis and atomization curves for simultaneous determination of Ni (black symbols) and Fe (white symbols). Both analytes have been evaluated by their aqueous standard solution (triangles, 0.5 ng Ni and 13 ng Fe), and green bell pepper sample normalized for 0.1 mg (squares).  $T_{\text{pyr}}$  = 1200 °C and  $T_{\text{at}}$  = 2400 °C.

The atomization curve had its highest absorbance for both analytes between 2400 °C and 2600 °C. However, Ni standard solution and samples did not show satisfactory signals at 2400 °C; in contrast, 2600 °C was not suitable for Fe atomization. An atomization temperature of 2500 °C resulted in the best peak profiles for Ni and Fe, and was chosen as the compromise atomization temperature.

### 3.3. Figures of merit

The calibration curves were obtained simultaneously. Standard solutions have been established with seven different masses ranging from 0.2–1.5 ng for Ni and from 3 to 60 ng for Fe. The blank measurements were carried out according to the “zero mass response” technique, inserting an empty platform and executing the temperature program repeatedly [27]. The limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) were calculated as three times and ten times, respectively, the standard deviation of ten measurements of the blank divided by the slope of the calibration curve. The characteristic mass ( $m_0$ ) is defined as the mass of analyte corresponding to an integrated absorbance of 0.0044 s [27], and was obtained using an intermediate standard of the calibration curve (Table 2). The  $m_0$  and LOD found for Ni and Fe were in agreement with those reported in the literature [24]. The correlation between sample mass and measured integrated absorbance was linear between 0.02 mg and 0.4 mg for Ni and Fe. A linear correlation has been found over a mass range of at least one order of magnitude for both elements. These features give flexibility for the sample mass to be introduced into the GF, because it is possible to use smaller amounts of sample mass when the analyte concentration is high and, analogously, higher masses for samples containing lower concentrations.

The trueness of the method was confirmed using the CRM NIST 1573a. The results for Ni and Fe were in agreement with the reference values (Table 3), according to a Student's *t*-test at a 95% confidence level ( $t_{\text{critical}} = 2.77$ ,  $t_{\text{calculated}} = 1.78$  for Ni, and  $t_{\text{calculated}} = 1.82$  for Fe).

The precision was based on the mean values and standard deviation of 5 replicate measurements of the samples, expressed by the RSD values, which was lower than 10%, suitable for direct solid sample analysis. Therefore, it can be concluded that Ni and Fe could be directly and simultaneously determined in vegetable samples using calibration with aqueous standard solutions.

### 3.4. Ni and Fe determination in vegetable samples of the Solanaceae family

The method was applied to determine simultaneously Ni and Fe in vegetables of the *Solanaceae* family, cultivated in organic and conventional farming systems. The results are shown in Fig. 4a and b, which show the mean and standard deviation of Ni and Fe concentrations of three samples of each vegetable, obtained from different suppliers to observe the variation of the elements concentrations according to where the vegetables were cultivated. Individual results of the concentrations of three samples of each vegetable, obtained from different suppliers are shown in the Supplementary material in the Tables S1 and S2.

Conventionally grown vegetables had the highest concentrations for Ni, except for the yellow bell pepper. The results varied randomly for Fe

**Table 2**

Figures of merit for the simultaneous determination of Ni and Fe in vegetables of *Solanaceae* family by HR-CS SS-GF AAS and calibration with aqueous standard solutions.

Parameters	Ni	Fe
Linear regression equation	$A_{\text{int}} = 0.00573 + 0.436 m \text{ (pg)}$	$A_{\text{int}} = 0.01026 + 0.00988 m \text{ (ng)}$
Correlation coefficient	0.998	0.994
LOD <sup>a</sup> /μg g <sup>-1</sup>	0.02	2
LOQ <sup>a</sup> /μg g <sup>-1</sup>	0.06	6
$m_0$	9.5 pg	340 pg

<sup>a</sup> Calculated for a sample mass of 0.4 mg.

**Table 3**

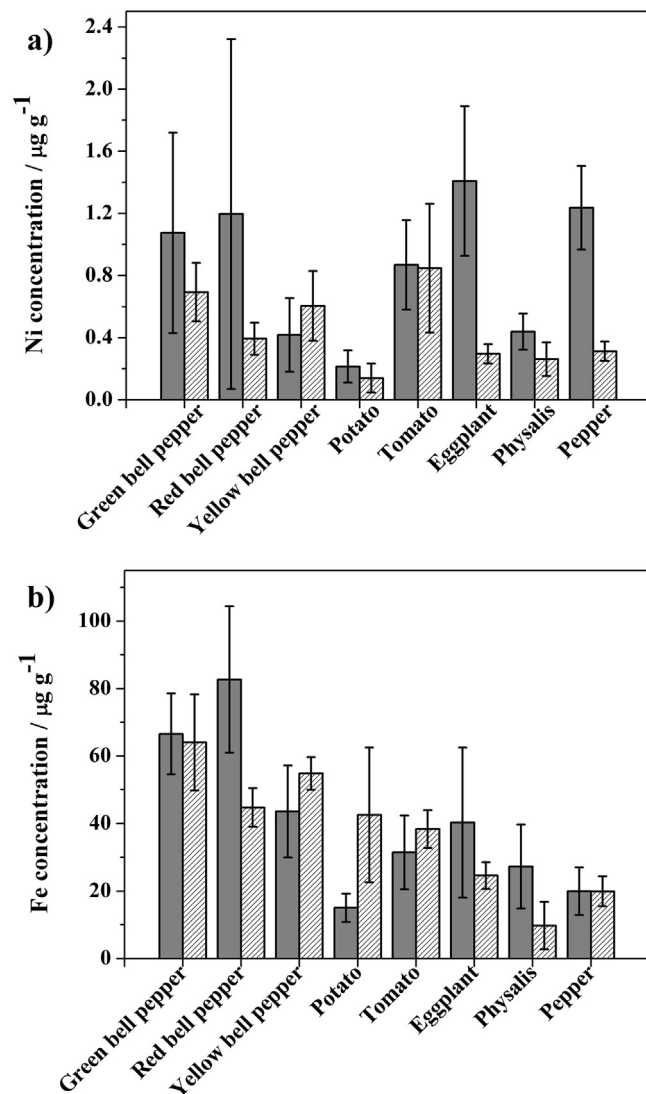
Determination of Ni and Fe in tomato leaves CRM (NIST 1573a) by HR-CS SS-GF AAS.

Analyte	Certified <sup>a</sup> /mg kg <sup>-1</sup>	Found <sup>a</sup> /mg kg <sup>-1</sup>
Ni	1.59 ± 0.07	1.67 ± 0.10
Fe	368 ± 7	346 ± 27

<sup>a</sup> Results are expressed as mean ± standard deviation ( $n = 5$ ).

between conventional and organic systems, and between samples of each vegetable, expressed by the standard deviation. According to a Tukey's test at a 95% confidence level, only eggplant and red pepper presented significant differences between the organically and conventionally grown vegetables for Ni, while no vegetables presented significant differences for Fe.

The results observed in this study are consistent with Bressy et al. [14], who evaluated the presence of metals in tomatoes of different species and in different stages of maturation. They also found lower concentration of Ni in organically grown vegetables, in both stages of maturation. Also according to Bressy et al. [14], there were no differences between organic and conventional farming for Fe in tomatoes in the final maturation state, while, organically grown tomatoes had lower concentration than conventionally grown ones in early maturation.



**Fig. 4.** Average (a) nickel and (b) iron concentration found in vegetables of the *Solanaceae* family grown in three different locations each, using HR-CS SS-GF AAS and comparing conventional (gray bars) and organic (hatched bar) farming systems.



This variation in the results of Fe concentration between conventional and organic systems is predictable, because Fe has an uneven distribution in soil, and it may have a limited absorption by plants due to formation of insoluble complexes in aerobic soils with high pH. Other features affect the absorption of the element, for instance, the chemistry and composition of soil, Fe species that the plants cannot absorb, water content and compaction [35,36]. The high concentration of Fe in vegetables is attributed to its role in the chlorophyll synthesis, and the results are consistent with those reported in the literature [20,35,36].

The concentration of Ni normally encountered in plant tissues is 0.5–5  $\mu\text{g g}^{-1}$ , in this study, it was found Ni concentrations between 0.054 and 2.6  $\mu\text{g g}^{-1}$  [37,38].

Iron concentrations were compared with those reported in the literature for these plants [2,39,40], in which, bell peppers and peppers presented concentrations of 4  $\mu\text{g g}^{-1}$ , for eggplants 2  $\mu\text{g g}^{-1}$ , for potatoes 8  $\mu\text{g g}^{-1}$ , for tomatoes 5  $\mu\text{g g}^{-1}$ , and for physalis 17  $\mu\text{g g}^{-1}$ . Both, conventionally and organically grown vegetables analyzed in this study had higher Fe concentrations than those reported in the literature. The values found for bell peppers were around 80  $\mu\text{g g}^{-1}$ , for tomatoes, eggplants and potatoes 40  $\mu\text{g g}^{-1}$ , and for peppers and physalis 20  $\mu\text{g g}^{-1}$ . All the individual values can be found in the supplementary material.

The concentration divergences of conventionally and organically grown vegetables can be caused by several factors: (i) differences in the uptake ability of the plants; (ii) using fertilizers and pesticides and their quantities; (iii) location of the crop, due to possible contamination by particulates; (iv) natural or anthropogenic presence of the elements in soil. Therefore, although it was not a topic of this investigation, soil analysis would be important in order to verify a possible contamination, although it is not trivial to determine whether it is the source or not [18,22,23,41–44].

Organic farming is sought because of the production care and the reduced use of pesticides and fertilizers. However, if the soil on which the plants are grown is not monitored and it has high metal content, it could lead to a contamination of the crop, resulting in plants equally or more contaminated compared to conventionally grown vegetables that use pesticides and fertilizers (a large source of metal contamination) [6–8].

#### 4. Conclusions

The method is simple and rapid, with reduced sample manipulation, avoiding possible contaminations. HR-CS SS-GF AAS is offering a suitable correction for spectral interferences using a least-squares algorithm. Moreover, it makes possible the simultaneous determination of the two analytes by monitoring simultaneously the two analytical lines that are within the spectral window. In this study, the highest concentrations of Ni and Fe were found in conventionally grown vegetables (eggplants and red bell pepper) and the lowest in organic vegetables (potatoes and physalis). Conventionally grown vegetables had, in general, higher concentration of both analytes compared to organically grown ones.

The trace element content in vegetables grown with both types of culture varied randomly, comparing their Ni and Fe content; even the three samples of each vegetable obtained from different suppliers showed a high dispersion of values. The factors that contribute to their concentration should also be evaluated, e.g. soil and water, to fully understand the effect of each farming system.

#### Acknowledgements

The authors are grateful to the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for their financial support. F.V.N. (150250/2016-9), B.W. (grant no. CNPq 303526/2016-5), M.G.R.V. (grant no. CNPq 305679/2015-5) and M.P.M.S. (grant no. CAPES 1551743).

#### Appendix A. Supplementary data.

Supplementary data to this article can be found online at <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2017.03.021>.

#### References

- [1] S. Knapp, L. Bohs, M. Nee, D.M. Spooner, Solanaceae – a model for linking genomics with biodiversity, *Comp. Funct. Genomics* 5 (2004) 285–291.
- [2] M. Butnariu, A. Butu, Chemical Composition of Vegetables and Their Products, Handbook of Food Chemistry, Berlin, 2015.
- [3] X.D. Pan, P.G. Wu, X.G. Jiang, Levels and potential health risk of heavy metals in marketed vegetables in Zhejiang, China, *Sci. Rep.* 6 (2016) 1–7.
- [4] R.B. Pereira, J.B. Pinheiro, A.D.F. Carvalho, Manejo do oídio em pimentão: um desafio em cultivo protegido, Embrapa Hortaliças, Brasília, DF, Comunicado Técnico (ISSN 1414.9850) 2013.
- [5] K.F. Isherwood, Mineral Fertilizer Use and Environment, International Fertilizer Industry Association, United Nations Environment Programme, Paris (ISBN: 2-9506299-3-8) 2000.
- [6] A.R. Borges, E.M. Becker, C. Lequeux, M.G.R. Vale, L.C.S. Ferreira, B. Welz, Method development for the determination of cadmium in fertilizer samples using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and slurry sampling, *Spectrochim. Acta B* 66 (2011) 529–535.
- [7] A.R. Borges, E.M. Becker, M.B. Dessuy, M.G.R. Vale, B. Welz, Investigation of chemical modifiers for the determination of lead in fertilizers and limestone using graphite furnace atomic absorption spectrometry with Zeeman-effect background correction and slurry sampling, *Spectrochim. Acta B* 92 (2014) 1–8.
- [8] A.R. Borges, L.L. François, E.M. Becker, M.G.R. Vale, B. Welz, Method development for the determination of chromium and thallium in fertilizer samples using graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis, *Microchem. J.* 119 (2015) 169–175.
- [9] Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, O mercado de hortaliças no Brasil, Sebrae Nacional, <http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-mercado-de-hortaliças-no-brasil,92e8634e2ca62410VgnVCM100000b272010aRCRD> 2015 (accessed February, 2017).
- [10] Ministério da agricultura, Mercado brasileiro de orgânicos deve movimentar R\$ 2,5 bilhões em, Assessoria de comunicação do MAPA, 2016 <http://www.agricultura.gov.br/comunicacao/noticias/2015/09/mercado-brasileiro-de-organicos-deve-movimentar-rs-2-bi-em-2016> (accessed February, 2017).
- [11] S. Damodaran, O.R. Fennema, K.L. Parkin, Química de alimentos de Fennema, Artmed, São Paulo, 2010.
- [12] Toxicological Profile For Nickel, Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Department of Health and Human Services, 2005.
- [13] H. Zhou, W.T. Yang, X. Zhou, L. Liu, J.F. Gu, W.L. Wang, J.L. Zou, T. Tian, P.Q. Peng, B.H. Liao, Accumulation of heavy metals in vegetable species planted in contaminated soils and the health risk assessment, *Int. J. Environ. Res. Public Health* 13 (2016) 289.
- [14] F.C. Bressy, G.B. Brito, I.S. Barbosa, L.S.G. Teixeira, M.G.A. Korn, Determination of trace elements concentrations in tomato samples at different stages of maturation by ICP OES and ICP-MS following microwave-assisted digestion, *Microchem. J.* 109 (2013) 145–149.
- [15] G.J. Norton, C.M. Deacon, A. Mestrot, J. Feldmann, P. Jenkins, C. Baskaran, A.A. Meharg, Cadmium and lead in vegetable and fruit produce selected from specific regional areas of the UK, *Sci. Total Environ.* 553 (2015) 520–527.
- [16] V. Kumar, A.K. Chopra, Agronomical performance of high yielding cultivar of eggplant (*Solanum melongena* L.) grown in sewage sludge, *Res. Agric.* 1 (2016) 1–24.
- [17] A. Cherfi, M. Cherfi, Z. Maache-Rezzoug, S.A. Rezzoug, Risk assessment of heavy metals via consumption of vegetables collected from different supermarkets in La Rochelle, France, *Environ. Monit. Assess.* 188 (2016) 1–10.
- [18] A.A.K. Abou-Arab, M.A.A. Donia, S.R. Mohamed, A.K. Enab, Risk assessment of lead in Egyptian vegetables and fruits from different environments, *Int. J. Biol. Biomol. Agric. Food Biotechnol. Eng.* 9 (2015) 330–336.
- [19] E. Bukvić, J. Huremović, M. Memić, S. Gojak-Salimović, Heavy metals in fruits and vegetables from markets in Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, *Technol. Acta* 6 (2013) 29–35.
- [20] N. Amin, A. Hussain, S. Alamzeb, S. Begum, Accumulation of heavy metals in edible parts of vegetables irrigated with wastewater and their daily intake to adults and children, District Mardan, Pakistan, *Food Chem.* 136 (2013) 1515–1523.
- [21] I.O. Akinyele, O.S. Shokunbi, Comparative analysis of dry ashing and wet digestion methods for the determination of trace and heavy metals in food samples, *Food Chem.* 173 (2015) 682–684.
- [22] S. Karavoltos, A. Sakellari, M. Dassenakis, M. Scoullas, Cadmium and lead in organically produced food stuffs from the Greek Market, *Food Chem.* 106 (2008) 843–851.
- [23] C. Chen, Y. Qian, Q. Chen, C. Li, Assessment of daily intake of toxic elements due to consumption of vegetables, fruits, meat, and seafood by inhabitants of Xiamen, China, *J. Food Sci.* 76 (2011) 181–188.
- [24] B. Gómez-Nieto, J. Gismera, T. Sevilla, J.R. Procopio, Simultaneous and direct determination of iron and nickel in biological solid samples by high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Talanta* 116 (2013) 860–865.
- [25] B. Welz, H. Becker-Ross, S. Florek, U. Heitmann, High-Resolution Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry, Wiley-VCH, Weinheim, 2005.
- [26] M.G.R. Vale, N. Oleszczuk, Current status of direct solid sampling for electrothermal atomic absorption spectrometry—a critical review of the development between 1995 and 2005, *Appl. Spectrosc. Rev.* 41 (2006) 377–400.

- [27] B. Welz, M. Sperling, *Atomic Absorption Spectrometry*, Wiley-VCH, Weinheim, 1999.
- [28] S. Armenta, S. Garrigues, M. de la Guardia, *Green analytical chemistry*, *TrAC Trends Anal. Chem.* 27 (2008) 497–511.
- [29] B. Welz, H. Becker-Ross, S. Florek, U. Heitmann, *Anal. Bioanal. Chem.* 381 (2005) 69–71.
- [30] D.L.G. Borges, A.J. Curtius, B. Welz, *Fundamentos da espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua*, *Rev. Anal.* 18 (2005) 58–67.
- [31] M. Resano, L. Rello, M. Flórez, M.A. Belarra, *On the possibilities of high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry for the simultaneous or sequential monitoring of multiple atomic lines*, *Spectrochim. Acta B* 66 (2011) 321–328.
- [32] L.M.G. dos Santos, B. Welz, R.G.O. Araujo, S.C. Jacob, M.G.R. Vale, A. Martens, I.B.G. Martens, H. Becker-Ross, *Simultaneous determination of Cd and Fe in beans and soil of different regions of Brazil using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sampling*, *J. Agric. Food Chem.* 57 (2009) 10089–10094.
- [33] B.M. Soares, R.F. Santos, R.C. Bolzan, E.I. Muller, E.G. Primel, F.A. Duarte, *Simultaneous determination of iron and nickel in fluoropolymers by solid sampling high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry*, *Talanta* 160 (2016) 454–460.
- [34] F.G. Lepri, D.L.G. Borges, R.G.O. Araujo, B. Welz, F. Wendler, M. Krieg, H. Becker-Ross, *Determination of heavy metals in activated charcoals and carbon black for Lyocell fiber production using direct solid sampling high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption and inductively coupled plasma optical emission spectrometry*, *Talanta* 82 (2010) 980–987.
- [35] J.B. Morgan, E.L. Connolly, *Plant-soil interactions: nutrient uptake*, *Nat. Educ. Knowl.* 4 (2013).
- [36] M.L. Guerinot, Y. Yi, *Iron: nutritious, noxious and not readily available*, *Plant Physiol.* 104 (1994) 815–820.
- [37] S.E. Allen, *Chemical Analyses of Ecological Materials*, 2 ed. Blackwell Scientific Publications, Boston Melbourne, 1989.
- [38] A.D. Sharma, *Relationship between nickel allergy and diet*, *Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.* 63 (2007) 307–312.
- [39] *Physalis & companhia, Informação Nutricional*, <https://sites.google.com/site/physalisecompanhia/informacao-nutricional> (accessed February, 2017).
- [40] *Tabela de valor nutricional*, <http://www.tabelanutricional.com.br/> (accessed February, 2017).
- [41] D.F.S. Araújo, M.A.S. Vasconcelos, S.A.C. Andrade, L.A. Sarubbo, *The concentration of minerals and physicochemical contaminants in conventional and organic vegetables*, *Food Control* 44 (2013) 242–248.
- [42] M.M.F. Santos, R.P. Matos, H.A. Leite, P.G. Gervasio, *Determinação dos elementos traços em amostras de pães e vegetais comercializadas na cidade de Jequié, BA*, *Revista científica do departamento de química e exatas*, Vol. 3, 2012 12–20.
- [43] A. Pendas-Kabata, in: Taylor and Francis Group (Ed.), *Trace Elements in Soils and Plants*, 4<sup>th</sup> ed., 2011 (ISBN: 978-1-4200-9368-1).
- [44] M. Pozzatti, A.R. Borges, M.B. Dessuy, M.G.R. Vale, B. Welz, *Determination of cadmium, chromium and copper in vegetables of the Solanaceae family using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis*, *Anal. Methods* 9 (2017) 329–337.

**Simultaneous determination of nickel and iron in vegetables of Solanaceae family using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis**

**Electronic Supplementary Information (ESI)**

Tables S.1 and S.2 show the concentration of Ni and Fe in three samples of each vegetable (conventional and organic), which were obtained from different suppliers.

Table S.1. Determination of Ni in vegetables of the *Solanaceae* family cultivated in conventional and organic system by HR-CS SS-GF AAS

Vegetable	Conventional / $\mu\text{g g}^{-1*}$			Organic / $\mu\text{g g}^{-1*}$		
	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Green Bell Pepper	$0.41 \pm 0.03$	$1.0 \pm 0.1$	$1.8 \pm 0.1$	$0.47 \pm 0.04$	$0.75 \pm 0.06$	$0.85 \pm 0.03$
Yellow Bell Pepper	$0.20 \pm 0.01$	$0.42 \pm 0.04$	$0.73 \pm 0.08$	$0.35 \pm 0.02$	$0.48 \pm 0.05$	$0.97 \pm 0.08$
Red Bell Pepper	$0.20 \pm 0.02$	$0.84 \pm 0.08$	$2.6 \pm 0.2$	$0.32 \pm 0.03$	$0.33 \pm 0.02$	$0.49 \pm 0.05$
Tomato	$0.36 \pm 0.05$	$0.86 \pm 0.08$	$1.6 \pm 0.1$	$0.53 \pm 0.01$	$0.65 \pm 0.04$	$1.3 \pm 0.1$
Potato	$0.13 \pm 0.01$	$0.18 \pm 0.01$	$0.34 \pm 0.03$	$0.054 \pm 0.003$	$0.11 \pm 0.01$	$1.3 \pm 0.1$
Eggplant	$0.82 \pm 0.07$	$1.6 \pm 0.1$	$1.8 \pm 0.2$	$0.22 \pm 0.02$	$0.33 \pm 0.01$	$0.34 \pm 0.04$
Physalis	$0.32 \pm 0.02$	$0.44 \pm 0.04$	$0.56 \pm 0.06$	$0.13 \pm 0.01$	$0.31 \pm 0.03$	$0.35 \pm 0.02$
Redpepper	$0.94 \pm 0.08$	$1.3 \pm 0.1$	$1.5 \pm 0.1$	$0.25 \pm 0.02$	$0.32 \pm 0.03$	$0.38 \pm 0.03$

(\* )Results are expressed as mean  $\pm$  standard deviation (n=5)

Table S.2. Determination of Fe in vegetables of the *Solanaceae* family cultivated in conventional and organic system by HR-CS SS-GF AAS.

Vegetable	Conventional / $\mu\text{g g}^{-1*}$			Organic / $\mu\text{g g}^{-1*}$		
	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Green Bell Pepper	$59 \pm 6$	$60 \pm 5$	$81 \pm 6$	$47 \pm 4$	$71 \pm 7$	$76 \pm 2$
Yellow Bell Pepper	$29 \pm 0.(3)$	$42 \pm 3$	$58 \pm 4$	$51 \pm 4$	$53 \pm 6$	$57 \pm 8$
Red Bell Pepper	$64 \pm 2$	$76 \pm 6$	$0.11 \pm 0.01$ $\text{mg g}^{-1}$	$39 \pm 2$	$44 \pm 3$	$50 \pm 2$
Tomato	$19 \pm 1$	$33 \pm 3$	$39 \pm 4$	$33 \pm 3$	$36 \pm 3$	$44 \pm 2$
Potato	$12 \pm 1$	$12 \pm 1$	$20 \pm 1$	$27 \pm 2$	$33 \pm 2$	$67 \pm 6$
Eggplant	$17 \pm 2$	$37 \pm 3$	$67 \pm 6$	$20 \pm 1$	$26 \pm 2$	$27 \pm 3$
Physalis	$13 \pm 1$	$28 \pm 3$	$40 \pm 3$	$18 \pm 2$	$26 \pm 2$	$33 \pm 3$
Red pepper	$15 \pm 1$	$15 \pm 1$	$28 \pm 2$	$15 \pm 2$	$19 \pm 2$	$24 \pm 2$

(\*)Results are expressed as mean  $\pm$  standard deviation (n=5)

## 6. DISCUSSÃO GERAL E CONCLUSÕES

### 6.1 Discussão geral

O trabalho consistiu no desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação de metais traço em vegetais da família Solanaceae, utilizando HR-CS SS-GF AAS. Os vegetais escolhidos tem grande importância econômica, sendo muito consumidos devido a grande quantidade de nutrientes, os quais contribuem para a manutenção da boa saúde. No entanto, os vegetais podem conter também, além de nutrientes essenciais, elementos potencialmente tóxicos, como Cd, Cr, Cu, Ni e Fe. Com exceção do Cd e do Ni, os outros elementos são considerados importantes quando em baixas concentrações, no entanto, a alta exposição pode causar danos à saúde.

O artigo 1 (Sessão 5) aborda o desenvolvimento de métodos para determinação de Cd, Cr e Cu nos vegetais. Realizou-se a otimização dos métodos, avaliando a necessidade do uso de modificador químico para o Cd, devido a sua instabilidade térmica, bem como a avaliação das temperaturas ideais de pirólise e atomização para todos os elementos. Em seguida realizou-se a calibração dos métodos, estabelecendo assim, os parâmetros de mérito. Os valores de massa característica encontrados foram concordantes com àquelas existentes na literatura, as quais fizeram uso dos mesmos parâmetros analíticos, no entanto, aplicados em diferentes amostras. Os valores de LOD e LOQ obtidos foram confortavelmente inferiores aos limites máximos estipulados pelas legislações existentes para estes elementos, permitindo assim, o confronto das concentrações presentes nos vegetais analisados com as referidas legislações.

A amostragem direta de sólidos é uma alternativa muito viável, no entanto, se uma amostra apresenta uma elevada concentração do analito, torna a análise difícil, pois isso ocasiona valores de absorvância muito altos, ocorrendo perda da linearidade por apresentar desvio da Lei de Lambert-Beer, a qual rege a absorção atômica. Contudo, a técnica da HR-CS AAS permite o uso de linhas secundárias dos elementos, visto que a intensidade emitida pela fonte de radiação é a mesma em todos os comprimentos de onda, resultando em uma melhor razão sinal ruído (S/N) para todas as linhas analíticas. Esta ferramenta foi útil para a determinação de Cu, que estava presente em elevadas concentrações nos vegetais analisados. Neste caso foi utilizada a linha analítica em 327,396 nm, cuja sensibilidade é 45 % inferior a linha analítica principal. Houve ainda a necessidade de trabalhar apenas com o pixel central (CP), que constituem as unidades fotossensíveis do detector. Ainda, a fim de reduzir um



pouco mais a sensibilidade e poder variar a massa de amostra inserida no tubo de grafite, optou-se por utilizar um fluxo mínimo de gás Ar na etapa de atomização. Vale ressaltar que para Cd e Cr foram utilizados 3 pixels para a leitura, o pixel central e seus dois pixels adjacentes ( $CP \pm 1$ ).

Após a otimização dos métodos, os mesmos foram aplicados nas amostras, verificou-se grande variação nas concentrações de Cd, Cr e Cu nos 3 vegetais de cada espécie, expressa pelo elevado desvio padrão encontrado. Não foi possível identificar nenhuma tendência quanto a diferença entre o cultivo orgânico e convencional, principalmente para Cu e Cr. No entanto, para o Cd, em média, os vegetais orgânicos tiveram uma concentração mais baixa, quando comparado aos convencionais. Com base na realização do teste de Tukey ( $p < 0,05$  – Statistica 7.0) apenas physalis para o elemento Cd, berinjela para Cr e pimentão verde e pimenta para Cu, apresentaram diferenças significativas entre os dois cultivos.

O segundo artigo (Sessão 5) aborda o uso da técnica de HR-CS AAS a partir da realização de análises multielementares, sendo aplicado neste estudo a determinação simultânea de Ni e Fe, os quais possuem um comportamento térmico semelhante e linhas analíticas próximas.

Durante a otimização dos métodos foi verificada a presença de interferência da molécula SiO, a qual foi corrigida aplicando-se LSBC.

Na determinação de Ni, verificou-se que, em média, vegetais orgânicos tiveram uma menor concentração do elemento, quando comparado aos convencionais, com exceção do pimentão amarelo. Apenas berinjela e pimenta apresentaram diferenças estatísticas entre os dois cultivos. Para Fe, houve grande variação entre os vegetais orgânicos e convencionais, bem como entre os vegetais de cada espécie, sendo que não foi detectada nenhuma diferença estatística entre os dois cultivos para este elemento.

As variações encontradas para todos os elementos analisados podem advir de diversos fatores, visto que cada solo possui uma composição diferente, devido as partículas dispersas no ar e que nele se depositam, na água e nos próprios vegetais, influenciando assim na distribuição dos elementos; a água utilizada; o uso de agrotóxicos, pesticidas e adubos orgânicos; emissão de poluentes por fábricas e escapamentos de veículos; solos que anteriormente serviram para processamento de resíduos, como aterros sanitários; ambientes que sofreram inundações, que costumam trazer consigo diversos tipos de materiais. Todos estes fatores contribuem para um ambiente extremamente variado, conferindo diferentes concentrações de elementos nos locais onde são cultivados alimentos.

## 6.2 Conclusões

Com base no estudo, foi possível desenvolver métodos utilizando a HR-CS SS-GF AAS, os quais demonstraram-se rápidos, precisos, simples, sensíveis, sendo assim aplicáveis para análises de rotina. Também foi demonstrado que a análise direta de sólidos para estes vegetais, utilizando calibração com padrões aquosos é viável. A HR-CS AAS possibilitou a análise simultânea de Ni e Fe. Além disso, também propiciou a determinação de elementos por análise direta de sólidos, mesmo daqueles que se apresentaram em grandes concentrações e a correção de interferências espectrais, por meio da aplicação do algoritmo de mínimos quadrados.

Devido ao objetivo ser o desenvolvimento de métodos analíticos, não foi avaliado um número representativo de amostras, que fosse suficiente para concluir efetivamente a influência do impacto orgânico e convencional nos vegetais. Ademais, para verificar a real influência dos cultivos, todos os fatores como solo, água e insumos utilizados como auxiliares na agricultura precisam ser rigorosamente controlados, para ter como variável diferencial tão só e unicamente a forma de cultivo. Desta forma, sugere-se como trabalhos futuros, a aplicação dos métodos desenvolvidos para análises aprofundadas, com número amostral suficiente e condições de cultivo controladas, a fim de verificar a real influência dos cultivos orgânico e convencional no aporte de metais em vegetais.

Neste estudo, considerando o número de amostras analisados, verificou-se que, principalmente para Cr, Cu e Fe, nenhuma tendência pode ser observada, enquanto que para Cd e Ni, em média, vegetais orgânicos apresentaram menores concentrações, quando comparado aos vegetais convencionais. No entanto, as três amostras de cada vegetal apresentaram grande variabilidade, expressa pelo elevado desvio padrão encontrado, sendo que, esta variação advém da grande diversidade relacionada a concentração de metais no ambiente.

Sendo assim, torna-se de extrema importância realizar a avaliação do solo o qual pretende-se utilizar para o plantio de alimentos, bem como dos alimentos nele cultivados, visto que, por exemplo, quando um consumidor busca por um produto orgânico, o faz com o intuito de consumir um alimento com menores concentrações de elementos potencialmente prejudiciais a saúde, quando comparado a um alimento cultivado pelo manejo convencional, ao qual é permitido aplicar agrotóxicos e pesticidas, e se este solo estiver contaminado com grande quantidade de metais ou resíduos de agrotóxicos, o vegetal perderá suas características de “orgânico”.

## REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA). Relatório PARA 2011-2012. Gerência-Geral de Toxicologia; Brasília, 2013.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Programa de Análise de Resíduos de agrotóxicos em Alimentos (PARA). Relatório de atividades de 2009. Gerência-Geral de Toxicologia, Brasília, 2010.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Programa de Análise de Resíduos de agrotóxicos em Alimentos (PARA). Relatório de atividades de 2001-2007. Gerência-geral de Toxicologia, Brasília, 2008

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Programa de Análise de Resíduos de agrotóxicos em Alimentos (PARA). Relatório complementar relativo à segunda etapa das análises de amostras coletadas em 2012. Gerência-Geral de Toxicologia Brasília, 2014.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Programa de Análise de Resíduos de agrotóxicos em Alimentos (PARA). Relatório das análises de amostras monitoradas no período de 2013 a 2015. Gerência-Geral de Toxicologia, Brasília, 2016.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. Consulta Pública, nº 80, 2004.

AHMAD, K.; KHAN, Z.I.; ASHFAQ, A.; AKRAM, N.A.; ASHRAF, M.; YASMEEN, S.; TUFARELLI, V.; LAUDADIO, V.; FRACCHIOLLA, M.; CAZZATO E. Contamination and accumulation of heavy metals in brinjal (*Solanum melongena* L.) grown in a long-term wastewater-irrigated agricultural land of Sargodha. **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 25, p. 2405-2410, 2016.

ALLEN, S.E. **Chemical Analysis of Ecological Materials**. 2 ed. Boston Melbourne: Blackwell Scientific Publications, 1989.

ARAÚJO, D.F.S.; VASCONCELOS, M.A.S.; ANDRADE, S.A.C.; SARUBBOC, L.A. The concentration of minerals and physicochemical contaminants in conventional and organic vegetables. **Food Control**, v. 44, p. 242-248, 2013.

BARAŃSKI, M.; SREDNICKA-TOBER, D.; VOLAKAKIS, N.; SEAL, C.; SANDERSON, R.; STEWART, G.B.; BENBROOK, C.; BIAVATI, B.; MARKELLOU, E.; GIOTIS, C.; GROMADZKA-OSTROWSKA, J.; REMBIAŁKOWSKA, E.; SKWARŁO-SOŃTA, K.; TAHVONEN, R.; JANOVSÁ, D.; NIGGLI, U.; NICOT, P.; LEIFERT, C. Higher antioxidant and lower cadmium concentrations and lower incidence of pesticide residues in organically grown crops: a systematic literature review and meta-analyses. **British Journal of Nutrition**, v. 112, p.794-811, 2014.

BORGES, A.R.; BECKER, E.M.; DESSUY, M.B.; VALE, M.G.R.; WELZ, B. Investigation of chemical modifiers for the determination of lead in fertilizers and limestone using graphite

furnace atomic absorption spectrometry with Zeeman-effect background correction and slurry sampling. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 92, p. 1–8, 2014.

BORGES, A.R.; BECKER, E.M.; LEQUEUX, C.; VALE, M.G.R.; FERREIRA, L.C.S.; WELZ, B. Method development for the determination of cadmium in fertilizer samples using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and slurry sampling. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 66, p. 529-535, 2011.

BORGES, A.R.; FRANÇOIS, L.L.; BECKER, E.M.; VALE, M.G.R.; WELZ, B. Method development for the determination of chromium and thallium in fertilizer samples using graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis. **Microchemical Journal**, v. 119, p. 169–175, 2015.

BORGES, D.L.G.; CURTIUS, A.J.; WELZ, B.; HEITMANN, U. Fundamentos da espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua. **Revista Analytica**, v. 18, p. 58-67, 2005.

BORGUINI, R. G.; TORRES, E.A.F.S. da. Alimentos orgânicos: qualidade nutritiva e segurança do alimento. **Segurança alimentar e nutricional**, v. 13, p. 64-75, 2006.

BOSCHETTI, W.; BORGES, A.R.; DUARTE, A.T.; DESSUY, M.B.; VALE, M.G.R.; DE ANDRADE, J.B.; WELZ, B. Simultaneous determination of Mo and Ni in wine and soil amendments by HR-CS GF AAS. **Analytical methods**, v. 6, p. 4247-4256, 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº - 42, de 29 de agosto de 2013. Diário Oficial da União, 2013. Disponível em: <  
[http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/CRC/Resolu%C3%A7%C3%A3o%2042%20-%20ANVISA.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/CRC/Resolu%C3%A7%C3%A3o%2042%20-%20ANVISA.pdf)> Acesso em: 25 jan. 2017.

BRASIL. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimento. Resolução - CNNPA nº 13, de 15 de julho de 1977. Disponível em: <  
[http://www.anvisa.gov.br/anvisalegis/resol/13\\_77.htm](http://www.anvisa.gov.br/anvisalegis/resol/13_77.htm)> Acesso em: 25 jan. 2017.

BRASIL. Decreto nº 6.323, de 27 de dezembro de 2007. Regulamenta a Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003, que dispõe sobre agricultura orgânica, e dá outras providências, 2007.

BRASIL. EMBRAPA. Cultivo de tomate para industrialização. Sistemas de produção. Versão Eletrônica. 2006. Disponível em: <  
[https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial\\_2ed/](https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial_2ed/)> Acesso em: 25 jan. 2017.

BRASIL. EMBRAPA. Pimenta: Capsicum spp. Sistemas de produção. Versão Eletrônica. 2007. Disponível em: <  
[https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pimenta/Pimenta\\_capsicum\\_spp/](https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pimenta/Pimenta_capsicum_spp/)> Acesso em: 25 jan. 2017

BRASIL. Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências, 2003.

BUTNARIU, M; BUTU, A. **Chemical Composition of Vegetables and Their Products**, Berlim, Handbook of Food Chemistry, 2015.

CHEN, C.; QIAN, Y.; CHEN, Q.; LI, C. Assessment of daily intake of toxic elements due to consumption of vegetables, fruits, meat, and seafood by inhabitants of Xiamen, China. **Journal of Food Science**, v. 76, p. 181-188, 2011.

CICILLINI, G.A. A história da ciência e o ensino da biologia. Versão eletrônica, v. 1, p. 1983-1730, 1992. Disponível em: <<http://www.seer.ufu.br/index.php/emrevista/article/view/7746>> Acesso em: 25 jan. 2017.

Conselho da Comunidade Européia. Regulamento (CE) n. 1804/1999, del 19 luglio 1999, che completa, per le produzioni animali, il regolamento (CEE) n. 2092/91 relativo al metodo di produzione biologico di prodotti agricoli e alla indicazione di tale metodo sui prodotti agricoli e sulle derrate alimentari, 1999. Disponível em: <[http://www.arpa.veneto.it/temi-ambientali/alimenti/file-e-allegati/l\\_22219990824it00010028.pdf](http://www.arpa.veneto.it/temi-ambientali/alimenti/file-e-allegati/l_22219990824it00010028.pdf)> Acesso em: 25 jan. 2017.

CONSELHO DAS COMUNIDADES EUROPÉIAS. Regulamento (CEE) nº 2092/91, de 24 de junho de 1991, relativo ao modo de produção biológico de produtos agrícolas e à sua indicação nos produtos agrícolas e nos géneros alimentícios, 1991. Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=celex%3A31991R2092>> Acesso em: 25 jan. 2017.

DAMODARAN, S.; FENNEMA, O.R.; PARKIN, K.L. **Química de alimentos de Fennema**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

DANGOUR, A.D.; DODHIA, S.K.; HAYTER, A.; ALLEN, E.; LOCK, K.; UAUY, R. Nutritional quality of organic foods: a systemic review. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 90, p. 680–685, 2009.

dos SANTOS, L.G.M.; WELZ, B.; ARAUJO, R.G.O.; JACOB, S.do C.; VALE, M.G.R.; MARTENS, A.; GONZAGA, I.B.; BECKER-ROSS, H. Simultaneous Determination of Cd and Fe in Beans and Soil of Different Regions of Brazil Using High-Resolution Continuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry and Direct Solid Sampling. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 10089–10094, 2009.

dos SANTOS, L.O.; BRANDAO, G.C.; dos SANTOS, A.M.P.; FERREIRA, S.L.C.; LEMOS, V.A. Direct and simultaneous determination of copper and iron in flours by solid sample analysis and high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Food Analytical Methods**, 2016, doi:10.1007/s12161-016-0600-9.

EC 1881/2006. European Commission Regulation (EU). Nº. 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Communities L364, v. 49, p. 5–24, 2006.

GÓMEZ-NIETO, B.; GISMERA, J.; SEVILLA, T.; PROCOPIO, J.R. Simultaneous and direct determination of iron and nickel in biological solid samples by high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 116, p. 860-865, 2013.

HALLENBECK, W.H. Human health effects of exposure to cadmium. **Experientia Supplementum**, v. 50, p. 131-137, 1986.

HALLMANN, E. The influence of organic and conventional cultivation systems on the nutritional value and content of bioactive compounds in selected tomato types. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, p. 2840-2848, 2012.

HOLLER, F.J.; SKOOG, D.A.; CROUCH, S.R. **Princípios de Análise Instrumental**, 6 ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

ISHERWOOD, K.F. **Mineral fertilizer user and environment**. International Fertilizer Industry Association. Paris, 2000.

IUPAC. **Compendium of Chemical Terminology**. 2<sup>a</sup> ed. (Gold Book). Oxford: Blackwell Scientific Publication, 1997.

JUROSZEK, P.; LUMPKIN, H.M.; YANG, R.Y.; LEDESMA, D.R.; MA, C.H. Fruit quality and bioactive compounds with antioxidant activity of tomatoes grown on-farm: comparison of organic and conventional management systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 1188-1194, 2009.

KARAVOLTSOS, S.; SAKELLARI, A.; DASSENAKIS, M.; SCOULLOS, M. Cadmium and lead in organically produced foodstuffs from the Greek market. **Food Chemistry**, v. 106, p. 843-851, 2008.

KAZIMIERCZAK, R.; GÓRKA, K.; HALLMANN, E.; ŚREDNICKA-TOBER, D.; LEMPKOWSKA-GOCMAN, M.; REMBIAŁKOWSKA, E. The comparison of the bioactive compounds content in selected leafy vegetables coming from organic and conventional production. **Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering**, v. 61, p. 218-223, 2016.

KELLY, S.D.; BATEMAN, A.S. Comparison of mineral concentrations in commercially grown organic and conventional crops—Tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) and lettuces (*Lactuca sativa*). **Food Chemistry**, v. 119, p. 738–745, 2010.

KEMPER, W.T. Vegetables families. Disponível em: < [www.gardeninghelp.org](http://www.gardeninghelp.org) >. Acesso em: 25 jan. 2017.

KNAPP, S.; BOHS, L.; NEE, M.; SPOONER, D.M. Solanaceae — a model for linking genomics with biodiversity. **Comparative and Functional Genomics**, v. 5, p. 285-291, 2004.

KREJČOVA, A.; NÁVESNÍK, J.; JIČÍNSKÁ, J.; ČERNOHORSKÝ, T. An elemental analysis of conventionally, organically and self-grown carrots. **Food Chemistry**, v. 192, p. 242-249, 2016.

LAIRON, D. Nutritional quality and safety of organic food A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 30, p. 33–41, 2010.

LIMA, G.P.P.; VIANELLO, F. Review on the main differences between organic and conventional plant-based foods. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, p. 1–13, 2011.

MUNIZ, J.; MOLINA, A.R.; MUNIZ, J. Physalis: Panorama produtivo e econômico no Brasil. *Horticultura Brasileira*, Print version; ISSN 0102-0536, Bahia, v. 33, 2015. Disponível em:<[https://www.researchgate.net/publication/276119389\\_Physalis\\_Panorama\\_produtivo\\_e\\_economico\\_no\\_Brasil](https://www.researchgate.net/publication/276119389_Physalis_Panorama_produtivo_e_economico_no_Brasil)> Acesso em: 25 jan. 2017.

NAKANO, D.H.; DELEO, J.P.B.; BOTEON, M. Choque de competitividade. **Hortifruticultura Brasil**, v. 51, p. 6-17, 2006.

NORTON, G.J.; DEACON, C.M.; MESTROT, A.; FELDMANN, J.; JENKINS, P.; BASKARAN, C.; MEHARG, A.A. Cadmium and lead in vegetable and fruit produce selected from specific regional areas of the UK. **Science of the total environment**, v. 553, p. 520–527, 2015.

OKMEN, B.; SIGVA, H.O.; MUTLU, S.; DOGANLAR, S.; YEMENICIOGLU, A.; FRARY, A. Total antioxidant activity and total phenolic contents in different Turkish eggplant (*Solanum melongena*) cultivars. **International Journal of Food Properties**, v. 12, p. 616–624, 2009.

PEREIRA, F.O. de; PEREIRA, R.S. dos; ROSA, L.S. de; TEODORO, A.J. Organic and conventional vegetables: Comparison of the physical and chemical characteristics and antioxidant activity. **African Journal of Biotechnology**, v. 15, p. 1746-1755, 2016.

PEREIRA, R.B.; PINHEIRO, J.B.; CARVALHO, A.D.F. Manejo do oídio em pimentão: um desafio em cultivo protegido. Comunicado Técnico. ISSN 1414.9850, 2013. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/960764>> Acesso em: 25 jan. 2017.

PHYSALIS & COMPANHIA. Informação Nutricional. Disponível em: <<https://sites.google.com/site/physalisecompanhia/informacao-nutricional>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

PUSSEMIER, L.; LARONDELLE, Y.; PETEGHEM, C.V.; HUYGHEBAERT, A. Chemical safety of conventionally and organically produced foodstuffs: a tentative comparison under Belgian conditions. **Food Control**, v. 17, p. 14-21, 2006.

REKHA, S.N.; NAIK, R. P. Pesticide residue in organic and conventional food-risk analysis. **Journal of Chemical Health and Safety**, v. 13, p. 12-19, 2006.

RESANO, M.; RELLO, L.; FLÓREZ, M.; BELARRA, M.A. On the possibilities of high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry for the simultaneous or sequential monitoring of multiple atomic lines. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 66, p. 321-328, 2011.

SANTOS, M.M.F.; MATOS, R.P.; LEITE, H.A.; GERVASIO, P.G. Determinação dos elementos traços em amostras de pães e vegetais comercializadas na cidade de Jequié, BA. **Exatas Online**, v. 3, p. 12-20, 2012. Disponível em: <<http://www2.uesb.br/exatasonline/images/V3N1%20pp%2012-20.pdf>> Acesso em: 25 jan. 2017.

SILVA, A.F.; BORGES, D.L.G.; LEPRI, F.G.; WELZ, B.; CURTIUS, A.J.; HEITMANN, U. Determination of cadmium in coal using solid sampling graphite furnace high-resolution continuum source atomic absorption. **Analytical Bioanalytical Chemistry**, v. 382, p. 1835-1841, 2005.

SINGH, K. Pollution and vegetable contamination: a review of the impact of various pollutants. **International Journal of Science, Engineering and Technology Research**, v. 5, p. 2314-2316, 2016.

SOARES, B.M.; SANTOS, R.F.; BOLZAN, R.C.; MULLER, E.I.; PRIMEL, E.G.; DUARTE, F.A. Simultaneous determination of iron and nickel in fluoropolymers by solid

sampling high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 160, p. 454-460, 2016.

Tabela de valor nutricional. Disponível em: <<http://www.tabelanutricional.com.br/>>. Acesso em: 25. jan. 2017

TORJUSEN, H.; LIEBLEIN, G.; WANDEL, M.; FRANCIS, C.A. Food system orientation and quality perception among consumers and producers of organic food in Hedmark County, Norway. **Food Quality and Preferences**, v. 12, p. 207-216, 2001.

Toxicological profile for cadmium. Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry. U.S. Department of Health and Human Services, 2012.

Toxicological profile for chromium. Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry. U.S. Department of Health and Human Services, 2012.

Toxicological profile for copper. Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry. U.S. Department of Health and Human Services, 2004.

Toxicological profile for nickel. U.S. Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Department of Health and Human Services, 2005.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – FOREIGN AGRICULTURAL SERVICE. National Food Safety Standard Maximum Levels of Contaminants in Food. Global Agricultural Information Network, 2010. Disponível em: <<http://www.franceagrimer.fr/content/download/34562/314748/file/INT%20ENG%20-%20GB%202762-2012%20-%20Niveaux%20de%20polluants%20maximum%20autoris%C3%A9s%20dans%20les%20pr%20duits%20alimentaires.pdf>>. Acesso em: 24 jan. 2017.

VRČEK, I.V.; ČEPO, D.V.; RAŠIĆ, D.; PERAICA, M.; ŽUNTAR, I.; BOJIĆ, M.; MENDAŠ, G.; MEDIĆ-ŠARIĆ, M. A comparison of the nutritional value and food safety of organically and conventionally produced wheat flours. **Food Chemistry**, v. 143, p. 522-529, 2014.

WELZ, B.; BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S.; HEITMANN, U. **High Resolution Continuum Source AAS**. Weinheim: Wiley-VCH, 2005.

WELZ, B.; SPERLING, M. **Atomic Absorption Spectrometry**. 3 ed. Weinheim: Wiley-VCH, 1999.

WELZ, B.; VALE, M.G.R.; PEREIRA, É.R.; CASTILHO, I.N.B.; DESSUY, M.B. Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry: Past, Present and Future Aspects – A Critical Review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, p. 799-821, 2014.